

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

Л.М.ТАРАСЕВИЧ

ВИРУСЫ НАСЕКОМЫХ



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

МОСКВА

1975

Вирусы насекомых. Тарасевич Л. М. М., «Наука», 1975, стр. 1—198.

Книга является первым русским изданием по энтомопатогенным вирусам. В ней рассматриваются вопросы классификации вирусов, их структура и морфогенез, специфичность, биохимия, симптомы и патогенез вирусных инфекций, пути их передачи, факторы, влияющие на чувствительность насекомых к этим инфекциям, латентные и смешанные вирусные инфекции и использование энтомопатогенных вирусов в качестве агентов биологической борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства.

Книга рассчитана на широкий круг научных работников — вирусологов, энтомологов, микробиологов, а также на аспирантов и студентов биологических и сельскохозяйственных вузов, специалистов по защите растений.

Табл. 25, рис. 41, библи. 742 назв.

Ответственный редактор
профессор Я. И. РАУТЕНШТЕЙН



1076285

T 21007—362
055(02)—75 589—75

© Издательство «Наука», 1975 г.

Огромные успехи вирусологии за последние 20 лет превратили ее в самостоятельную науку. Вирусы — эти своеобразные инфекционные агенты — стали изучаться на субклеточном и молекулярном уровнях. Развитие электронной микроскопии, химии и физикохимии биополимеров позволило исследовать тонкую структуру и состав вирусных частиц, взаимодействие вируса с клеткой, генетику вирусов.

Вирусные болезни насекомых были известны раньше, чем была определена их вирусная природа («желтуха» тутового шелкопряда), но они изучались менее интенсивно, чем вирусы человека, животных и растений.

Долгое время предметом исследования в этой области вирусологии были гистопатология и метаболизм пораженного вирусом насекомого. С развитием методов электронной микроскопии появилась возможность непосредственного изучения вирусов насекомых, их формы, размеров и тонкой структуры.

Методы молекулярной биологии позволили изучать нуклеиновые кислоты и белки вирусных частиц.

В последнее десятилетие получил широкое развитие биологический метод борьбы с вредными насекомыми и интерес к вирусам насекомых чрезвычайно возрос. Вирусы оказались в ряду наилучших агентов биологической борьбы благодаря многим своим особенностям, которые будут освещены в X главе книги. Вирусы насекомых становятся и частой моделью для исследования вопросов общей вирусологии и генетики.

В отличие от вирусов человека, животных и растений вирусы насекомых накапливаются в теле насекомых-хозяев в огромных количествах (10—30% веса тела) и могут быть сравнительно легко изолированы из больного насекомого.

При разведении насекомых на синтетических или полусинтетических питательных средах они становятся дешевыми подопытными животными.

Таким образом, общий прогресс науки и запросы практики привели к быстрому росту исследований в области вирусов насекомых. За последние годы описано много новых вирусов и вирусных заболеваний насекомых, исследованы тонкая структура вирионов, свойства их нуклеиновых кислот и белков, цикл размножения вирусов, патологические процессы, происходящие

МЕСТО ВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ
В ЕДИНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ ВИРУСОВ

в пораженном насекомом, культивирование тканей насекомых, применение вирусов в биометоды борьбы с вредными насекомыми.

Все эти исследования показывают, что среди вирусов насекомых мы находим виды, сходные по своим свойствам с вирусами человека, животных, растений (вирусами группы оспы, вирусом везикулярного стоматита и др.). С другой стороны, встречаются и своеобразные вирусы, известные пока лишь среди представителей класса насекомых (полиэдрозы и гранулезы насекомых, раджные вирусы).

Вирусы насекомых входят теперь в единую классификацию вирусов, разрабатываемую Международным комитетом по номенклатуре и классификации вирусов.

Мы не касаемся здесь большой группы арбовирусов, поражающих одновременно позвоночных и беспозвоночных животных. Так как эта группа вирусов вызывает многие тяжелые заболевания человека и животных (например, клещевой энцефалит, желтую лихорадку и др.), описание их обычно дается в изданиях по медицинской вирусологии.

В настоящем издании мы постарались осветить основные вопросы вирусологии насекомых и отразить современный уровень их исследования. Изложение не носит хронологического характера, что повело бы к значительному увеличению объема книги. Наш труд не претендует также на исчерпывающую полноту освещения всех оригинальных работ по вирусам насекомых.

В 1966 г. на IX Международном микробиологическом конгрессе в Москве вирусологами разных стран была единодушно признана необходимость интернациональной номенклатуры вирусов, биномиальной системы вирусов, отличной от бактериологической. Номенклатура вирусов тесно связана с их классификацией, поэтому прежде всего необходимо было утвердить принципы классификации вирусов.

В начале 50-х годов многие исследователи предлагали классификации вирусов, где основными критериями были виды поражаемых хозяев, способы распространения вирусов, симптомы заболеваний [4, 6, 27].

В то время методы электронной микроскопии были на таком уровне, когда тонкую структуру и свойства самих вирионов еще невозможно было использовать как критерий для классификации вирусов.

В 60-х годах с развитием тонких методов электронной микроскопии и молекулярной вирусологии стало возможно положить в основу классификации вирусов свойства вирионов, и в первую очередь тип симметрии и структуру вирионов и тип нуклеиновой кислоты вириона [1, 2].

В основу классификации вирусов была взята классификация Львова, Хорна и Турнье [9], в которой главными критериями являлись тип нуклеиновой кислоты вириона и его анатомия. Оказалось, что родственные вирусы имеют сходные тип симметрии, число капсомеров и диаметр нуклеокапсида. Приведем здесь краткую характеристику терминов, используемых в вирусологии. *Вирион* представляет конечную стадию развития вируса. Вирион содержит генетический материал, окруженный одной или двумя оболочками. *Капсид* — это белковая оболочка, в которую заключена нуклеиновая кислота вириона (от греч. «капса» — ящик). *Капсомеры* — морфологические части оболочки вириона.

Вирусы имеют два типа симметрии капсида — спиральный и кубический. При спиральной симметрии капсомеры упакованы винтообразно вокруг нуклеиновой кислоты. При кубической симметрии капсомеры упакованы вокруг нуклеиновой кислоты

таким образом, что в зависимости от количества и соотношения осей симметрии образуют икосаэдры, тетраэдры или октаэдры. Икосаэдрический тип упаковки чаще встречается у вирусов и образует не менее 60 капсомеров.

Таким образом, первыми критериями для классификации вирусов по свойствам вирионов были предложены: 1) химическая природа нуклеиновой кислоты вириона (ДНК или РНК); 2) симметрия нуклеокапсида (спиральная или кубическая); 3) присутствие или отсутствие оболочки («пеллос»); 4) диаметр нуклеокапсида для спиральных вирусов и число граней и число капсомеров для вирусов с кубической симметрией.

Международный комитет по номенклатуре и классификации вирусов, избранный на IX Международном конгрессе по микробиологии, предложил выделить все вирусы в самостоятельное царство «Vira». Комитет пришел к заключению, что код бактериальной номенклатуры не должен применяться по отношению к вирусам, что номенклатура вирусов должна быть международной, универсальной и латинизированной биномиальной номенклатурой без соблюдения закона приоритета. В номенклатуре не должны использоваться персональные имена и вводиться новые бессмысленные наименования. Вирусы с одинаковыми признаками рассматриваются как виды. Роды представляют собой группу видов, имеющих некоторые общие признаки. Название рода оканчивается на «virus».

Все классификации вирусов насекомых, предложенные ранее, основывались на типе и локализации телец-включений насекомых.

Уже в классификации Штейнхауза [39] имеются четыре рода вирусов насекомых. К роду *Borrelina* Штейнхауз отнес все полиэдры насекомых, образующие в ядрах пораженных клеток белковые включения — полиэдры. К роду *Morator* Штейнхауз отнес вирусы, не образующие включений, к роду *Pailotella* — вирусы, образующие полиморфные включения, и к роду *Bergoldia* — вирусы, образующие в пораженных клетках гранулы.

Вейзер [49] приписывает четырем родам, выделенным Штейнхаузом, статус подсемейств и добавляет еще четыре новых рода вирусов насекомых. К подсемейству *Borrelinoidea* он относит три рода — *Borrelina*, *Birdia* и *Smithia* (классические ядерные полиэдры, ядерные полиэдры кишечника и цитоплазматические полиэдры). В подсемейство *Pailotelloidea* Вейзер объединяет два рода — *Bergoldia* и *Steinhausia*, что соответствует цитоплазматическим и ядерным гранулезам. Четвертое подсемейство *Moratoroidea* представляло один род *Morator* вирусов, не образующих включений.

В 1960 г. группой ученых по изучению вирусов насекомых была предложена классификация, где кроме типа локализации включений учитывались форма и размеры вирусных частиц, а также тип нуклеиновой кислоты [15]. При этом все вирусы насе-

комых выделялись в четыре рода. В дальнейшем различные ученые [30, 32] продолжали делать попытки классификации вирусов насекомых на тех же принципах. Различные типы классификации вирусов, предложенные до 1966 г., представлены в табл. 1.

Таблица 1
Типы классификации вирусов насекомых

Принцип классификации	Таксоны	Роды вирусов	Литературный источник
Тип включений	Сем. <i>Borrelinaceae</i> (Holmes, 1948)	1. <i>Borrelina</i> Paillot 2. <i>Morator</i> Holmes 3. <i>Pailotella</i> Steinhaus 4. <i>Bergoldia</i> Steinhaus	[39]
Тип включений, их локализация	Сем. <i>Borrelinaceae</i> Подсемейства: 1. <i>Borrelinoidea</i> 2. <i>Pailotelloidea</i> 3. <i>Bergoldioidea</i> 4. <i>Moratoroidea</i>	То же + 5. <i>Birdiavirus</i> Weiser 6. <i>Smithiavirus</i> Weiser 7. <i>Xerosiavirus</i> Weiser 8. <i>Steinhausiavirus</i> Weiser	[49]
Тип включений, их локализация, форма и размеры включений и вирусных частиц, тип нуклеиновой кислоты		1. <i>Borrelinavirus</i> 2. <i>Bergoldiavirus</i> 3. <i>Smithiavirus</i> 4. <i>Moratorvirus</i>	[15]
Тип и локализация включений, размеры вирусных частиц	Класс <i>Arthropodophages</i> Подклассы: 1. <i>Nucleophilales</i> 2. <i>Plasmophilales</i>	1. <i>Borrelinavirus</i> 2. <i>Bergoldiavirus</i> 3. <i>Pseudomoratorvirus</i> 4. <i>Smithiavirus</i> 5. <i>Moratorvirus</i>	[30]
То же		То же + 6. <i>Pailotellavirus</i> 7. <i>Steinhausiavirus</i> 8. <i>Xerosiavirus</i> 9. <i>Birdiavirus</i>	[32]

После IX Международного конгресса Подкомитет по вирусам насекомых, входящий в состав Международного комитета по номенклатуре и классификации вирусов, приступил к работе над классификацией вирусов насекомых по новому принципу — по свойствам вирионов. Оказалось, что свойства вирионов вирусов насекомых изучены меньше, чем свойства вирионов других групп вирусов. Достаточно сказать, что тип нуклеиновой кислоты был известен немногим более чем у десяти вирусов насекомых из 300 описанных вирусов. Это обстоятельство значи-

тельно затрудняло и затрудняет в настоящее время классификацию вирусов насекомых. Было решено поэтому разбить вирусы на группы, обладающие наибольшим количеством сходных признаков.

На X Международном микробиологическом конгрессе в Мексике в 1970 г. Международный комитет по номенклатуре и классификации вирусов выделил 43 группы вирусов со сходными свойствами [54]. Кроме того, были приняты дополнительные критерии для классификации, а именно: число нитей нуклеиновой кислоты, молекулярный вес вириона, процент содержания нуклеиновой кислоты, очертания вириона и капсида, константа седиментации вириона, нуклеотидный состав, плавучая плотность, морфологические и антигенные свойства.

Все основные представители вирусов насекомых были отнесены к различным группам вирусов. Для каждой группы или рода вирусов предложен типовой вид, наиболее полно характеризующий свойства группы или рода. Свойства вирионов отражены соответствующими криптограммами с условными обозначениями каждого свойства. Криптограмма для палочковидных вирусов насекомых (*Baculovirus*) будет выглядеть, например, следующим образом:

[D/2 : 80—100/8—15 : U/E : I/O],

где D — тип нуклеиновой кислоты, в данном случае ДНК. В знаменателе — число нитей нуклеиновой кислоты. Следующая пара: в числителе — молекулярный вес нуклеиновой кислоты в миллионах, в знаменателе — процент содержания нуклеиновой кислоты. Третья пара характеризует очертания нуклеокапсида: U — вирион продолговатой формы, с параллельными сторонами и закругленными концами, E — нуклеокапсид продолговатый, с параллельными сторонами и незакругленными концами. Четвертая пара криптограммы характеризует род инфицируемого хозяина (числитель) и род переносчика (знаменатель). Для *Baculovirus* эта пара будет выглядеть как I/O, так как вирус инфицирует беспозвоночных (*Invertebrate*). По мере развития исследований в криптограммы будут включаться новые пары. Огромная подготовительная работа председателя Подкомитета по вирусам насекомых профессора Ваго позволила выделить семь групп вирусов насекомых, пять из которых входят в общие группы вирусов, а две имеют самостоятельный статус «рода» [8].

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП ВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ

I группа — *Baculovirus* (от греч. «Бакулум» — палочка) является самостоятельным родом вирусов насекомых в единой классификации вирусов. Она делится на две подгруппы: А. Полиэдрозы; Б. Гранулезы.

Типовым видом подгруппы А является вирус ядерного полиэдроза тутового шелкопряда, *Bombyx mori* L. Криптограмма вируса *Baculovirus bombycis* выглядит следующим образом:

[D/2 : 80/10—15 : U/E : I/O].

Основные свойства вирионов этой группы вирусов отражены в криптограмме. Они содержат двунитчатую ДНК с молекулярным весом около 80 млн. дальтонов. Сумма Г+Ц (гуанина и цитозина) в ДНК составляет 35—59%. Частицы имеют бациллоидную форму с размерами 250—400×40—70 нм. Вирионы имеют электронно-плотную сердцевину и внутреннюю и внешнюю мембраны. Они чувствительны к эфиру и нагреванию. Много частиц заключаются в кристаллические белковые включения, полиэдры.

Подгруппа В отличается от подгруппы А тем, что одна, редко две частицы заключаются в овальной формы включение — гранулу (капсулу). Размеры гранул значительно меньше, чем размеры полиэдров. Типовым видом подгруппы В является вирус гранулеза еловой хвоевертки — *Choristoneura fumiferana*, *Baculovirus choristoneura*. Вирусы подгруппы А вызывают полиэдрозы, подгруппы В — гранулезы насекомых.

Род *Baculovirus* включает в себя все вирусы ядерных полиэдрозов и гранулезов с описанными выше характеристиками вирионов.

Примерно половину всех известных в настоящее время вирусных заболеваний насекомых составляют полиэдрозы и гранулезы (табл. 2). Наиболее многочисленны полиэдрозы; по дан-

Таблица 2
Распределение вирионов среди членистоногих [29]

Хозяин	Отряд	Тип вируса					всего
		ядер- ный поли- эдроз	цитоплаз- менный полиэдроз	грану- лез	поли- морф- ные вклю- чения	без вклю- чений	
Моли, бабочки	Lepidoptera	105	85	37	3	3	233
Муравьи, осы, пчелы	Hymenoptera	12	12	0	0	3	27
Мухи, комары	Diptera	4	2	0	0	5	11
Жуки	Coleoptera	0	0	0	1	2	3
Саранча	Orthoptera	1	0	0	0	1	2
Златоглазки	Neuroptera	0	2	0	0	0	2
Паутинные клещи	Acarina	0	0	0	0	3	3
Всего		122	101	37	4	17	281

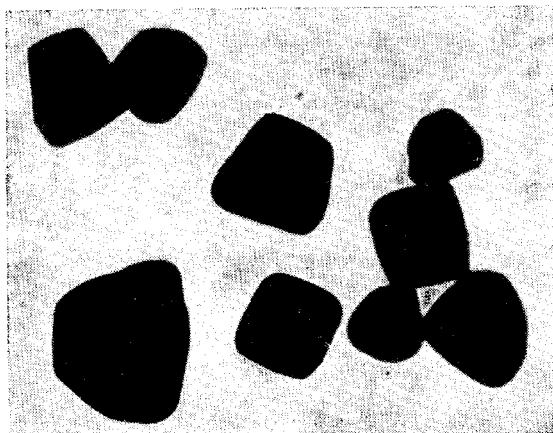


Рис. 1. Ядерные полиэдры американской белой бабочки (*Hyphantria cunea*). $\times 14\,000$. Фото Ю. Л. Рындовской

ным Игноффо [29], насчитывается 122 ядерных полиэдроза и 37 гранулезов.

По-видимому, такое большое число известных полиэдрозов и гранулезов насекомых обусловливается легкостью их диагностирования благодаря образованию кристаллических включений (полиэдров и гранул). Особенно легко увидеть под световым микроскопом полиэдры, которые имеют большие размеры (1—15 мк), резко преломляют свет и в отличие от других клеточных структур не окрашиваются обычными гистологическими красителями без предварительной специальной обработки. На рис. 1—4 представлены полиэдры, гранулы и вирионы рода *Vaculovirus*.

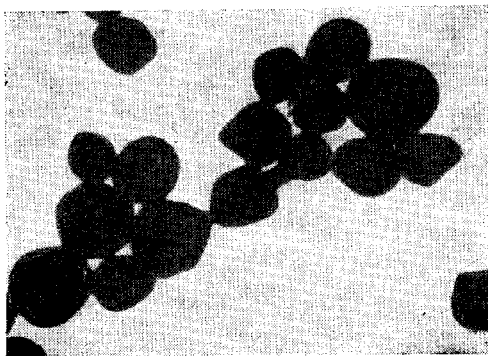


Рис. 2. Ядерные полиэдры *Operophtera bruceata*. $\times 6000$ [38]

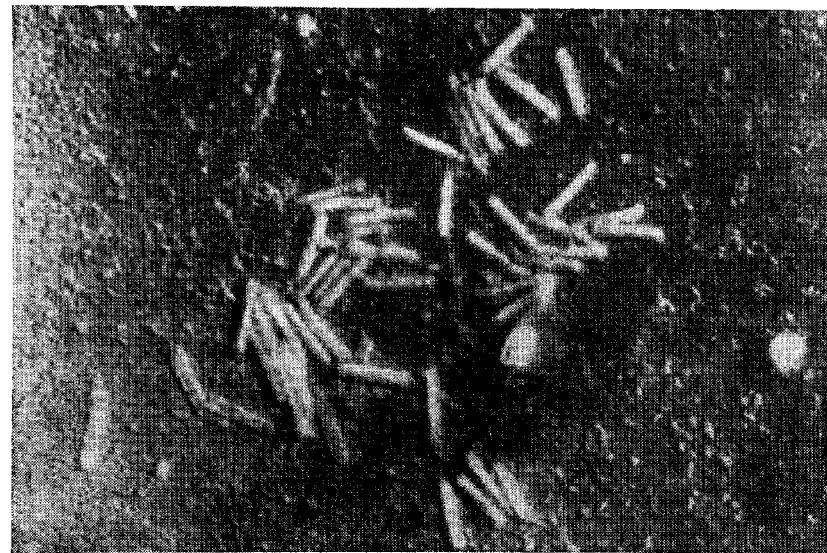


Рис. 3. Вирионы ядерного полиэдроза соснового кистехвоста (*Orgia pseudotsugata*). $\times 25\,300$ [35]

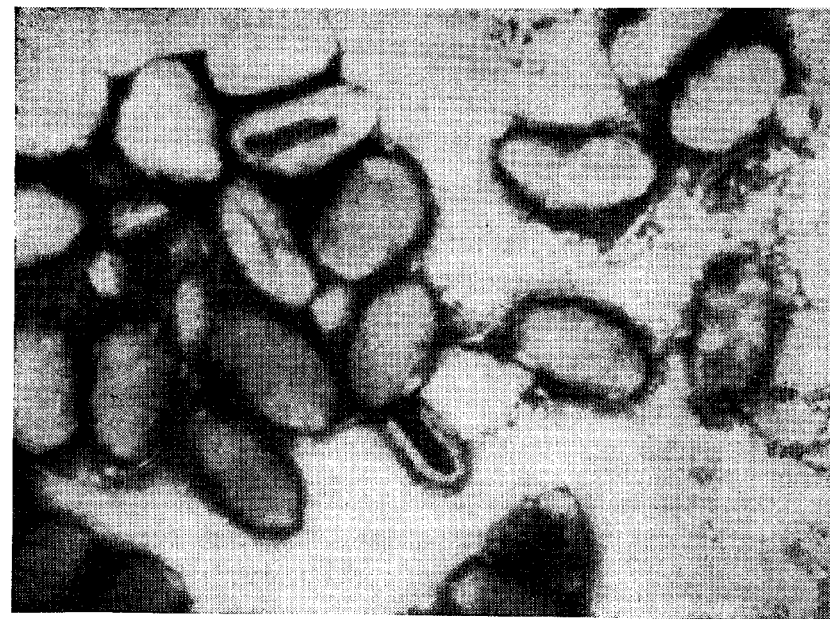


Рис. 4. Гранулы американской белой бабочки (*Hyphantria cunea*). Ультратонкий срез. $\times 14\,000$ [7]

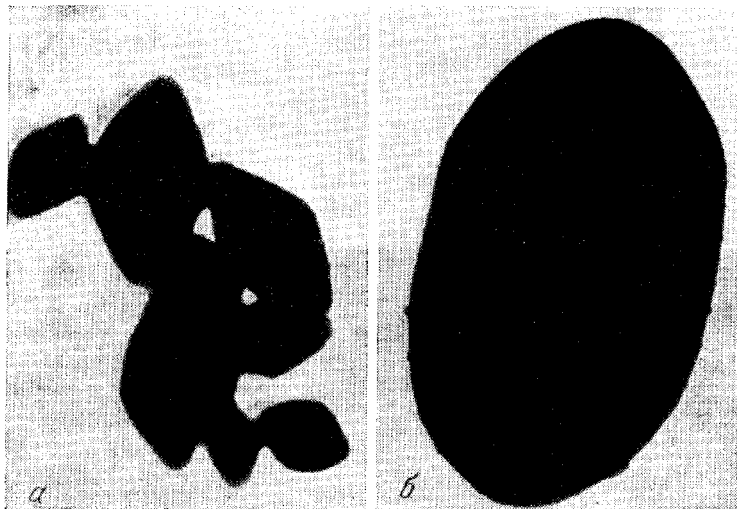


Рис. 5. Веретеновидные включения (а) и овоид (б) вируса оспы зимней пяденицы (*Operophtera brumata*). $\times 20\,000$ [51]

Наиболее поражаемым отрядом насекомых являются чешуекрылые (Lepidoptera), меньше — перепончатокрылые (Hymenoptera) и всего несколько случаев ядерных полиэдрозов известно у двукрылых (Diptera) и саранчовых (Orthoptera).

II группа вирусов насекомых входит в род *Poxvirus* (вирусы оспы) и носит название *Entomopoxvirus*.

Типовым видом этого рода является вирус оспы майского хруща (*Melolontha melolontha*), открытый сравнительно недавно Баро [42].

Криптограмма этого вируса отражает очень небольшие пока сведения о вирионах и выглядит так:

[Д/*; X/X : X/* : I/O].

В этой криптограмме * обозначает отсутствие сведений по данному признаку, X характеризует сложные очертания вириона и нуклеокапсида, отличные от U, E и S.

Таким образом, для вирионов *Entomopoxvirus* известен только тип нуклеиновой кислоты (ДНК) и сложное строение вириона и его оболочек (X). На рис. 5 и 6 представлены включения и вирионы вирусов оспы насекомых.

Вирионы вирусов оспы насекомых представляют собой сложные частицы овальной формы или формы бруска, с размерами $170\text{--}250 \times 300\text{--}325$ нм. Для них характерны шероховатая поверхность и многослойные оболочки. Вирионы размножаются в цитоплазматических фокусах и заключаются в крупные белковые включения, так называемые сфероиды или овоиды.

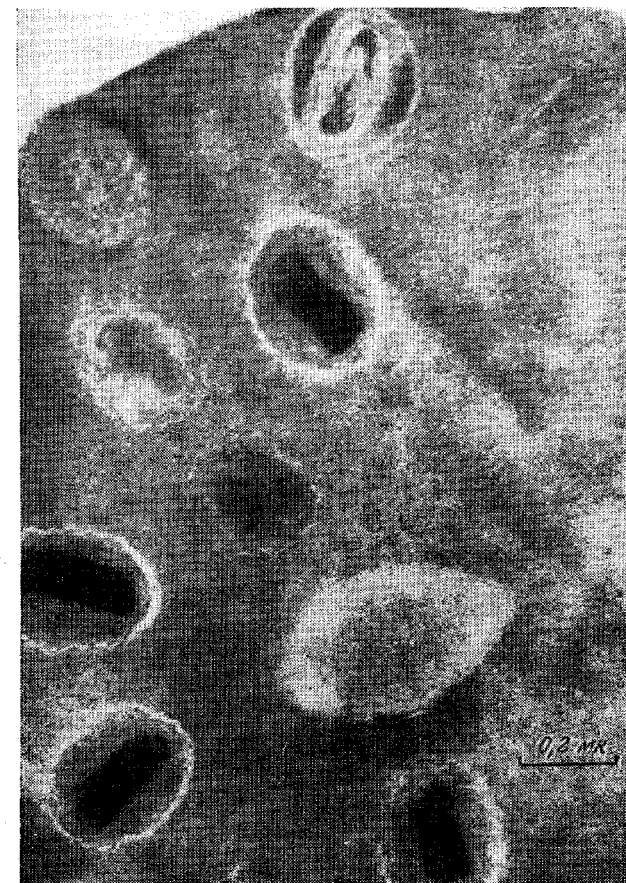


Рис. 6. Овоидные включения вируса оспы листовертки (*Choristoneura biennis*). Ультратонкий срез. Видны вирионы внутри включения [16]

Поскольку вирусы оспы насекомых открыты всего 10 лет назад, мы помещаем список известных вирусов оспы насекомых в табл. 3. Данные о морфологии, развитии и биохимическом составе вирусов оспы будут освещены в соответствующих разделах книги.

Вирусы оспы широко распространены у представителей таких разных отрядов насекомых, как жесткокрылые (Coleoptera), чешуекрылые (Lepidoptera) и двукрылые (Diptera). Несомненно, что список этих вирусов будет все более расширяться. Так, Лебедева и др. [5] описали оспоподобные структуры, обнаруженные ими в лабораторных культурах комаров *Aedes aegypti*. Размеры этих структур варьировали от 2,5 до 16,5 мк в длину и от 2,5 до 10 мк в ширину.

Таблица 3
Вирусы осы насекомых

№ п/п	Вирус	Насекомое-хозяин	Отряд, семейство	Литературный источник
1	Entomopoxvirus melolontha	Melolontha melolontha	Coleoptera: Scarabaeidae	[42]
2	Entomopoxvirus operophtera	Operophtera brumata	Lepidoptera: Geometridae	[51]
3	Entomopoxvirus cossus	Cossus cossus	Lepidoptera: Cossidae	[48]
4	Entomopoxvirus amsacta	Amsacta moorei	Lepidoptera: Arctiidae	[37]
5	Entomopoxvirus figulus	Figulus sublaevis	Coleoptera: Lucanidae	[44]
6	Entomopoxvirus demodena	Demodena boranensis	Coleoptera: Scarabaeidae	[45]
7	Entomopoxvirus oreopsyche	Oreopsyche angustella	Lepidoptera	[34]
8	Entomopoxvirus phylopertha	Phylopertha horticola	Coleoptera: Rutelidae	[46]
9	Entomopoxvirus melanopus	Melanopus sanguinipes (grasshoper)	Orthoptera: Acrididae	[26]
10	Entomopoxvirus othronius	Othronius batei	Coleoptera	[24]
11	Entomopoxvirus estigmena	Estigmena acrea	Lepidoptera: Arctiidae	[26]
12	Entomopoxvirus camptochironomus	Camptochironomus tentans	Diptera	[53]
13	Entomopoxvirus chironomus	Chironomus luridus	Diptera	[28]
14	Entomopoxvirus choristoneura	Choristoneura bienis	Lepidoptera: Tortricidae	[16]
15	Entomopoxvirus euxoa	Euxoa auxliaris	Lepidoptera: Noctuidae	[40]
16	Entomopoxvirus choristoneura	Choristoneura conflictana	Lepidoptera: Tortricidae	[20]

III группа вирусов насекомых представлена родом Iridovirus — радужных вирусов.

Этот род вирусов является уникальным и не имеет себе подобных среди вирусов растений, позвоночных животных и человека. Особенность этих вирусов заключается в необычном радужном свечении от оранжевого до сине-зеленого и фиолетового оттенков, которое обуславливается необычайно правильной кристаллической упаковкой вирусных частиц. Такая упаковка хорошо видна на рис. 7. Это свойство и позволило выделить радужные вирусы в самостоятельный род Iridovirus.

Типовым видом Iridovirus является радужный вирус болотной долгоножки (*Tipula paludosa* Meig.), открытый в 1954 г. Ксеросом [55]. Он содержит 15% двунитчатой ДНК с молекулярным весом 130×10^6 млн. Содержание Г+Ц=29—32%.



Рис. 7. Радужный вирус комара *Aedes taeniorhynchus*. Ультратонкий срез. $\times 6400$ [25]

Вирионы Iridovirus tipula представляют собой икосаэдрические частицы с $d=130$ нм и константой седиментации, равной 2200S. Вирион содержит 1500 капсомеров.

Криптограмма вириона выглядит так:

$$\{D/2: 126/15 \div S/S: I/O\},$$

где S означает сферическую форму вириона и капсида.

После открытия радужного вируса болотной долгоножки только через девять лет был описан радужный вирус жука-ско-

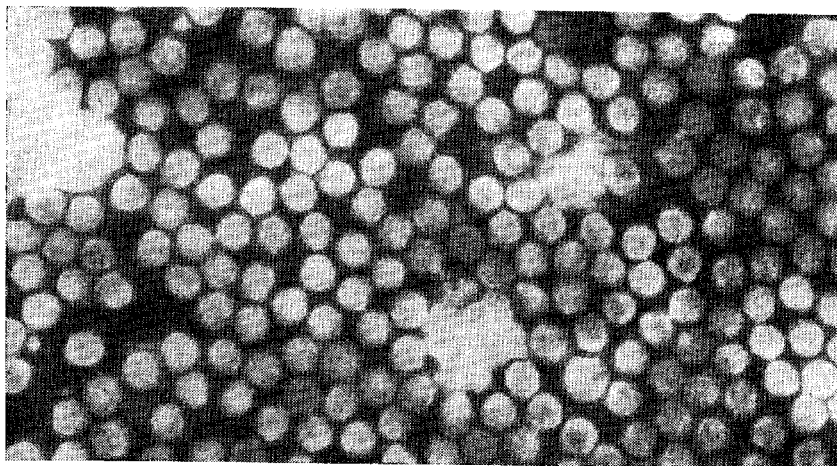


Рис. 8. Радужный вирус комара *Aedes caspius dorsalis*. $d=210$ нм [3]

робея (*Sericesthis pruinosa*) [21]. В дальнейшем наибольшее число радужных вирусов обнаружено у различных видов комаров (рис. 8). Радужные вирусы довольно хорошо изучены в настоящее время в отношении их морфологии, биохимического состава и круга заражаемых хозяев. В табл. 4 приводится список радужных вирусов, описанных к настоящему времени в литературе.

Таблица 4
Радужные вирусы насекомых (*Iridovirus*)

№ п/п	Вирус	Насекомое-хозяин	Отряд	Литературный источник
1	<i>Iridovirus tipula</i>	<i>Tipula paludosa</i>	Diptera	[55]
2	<i>Iridovirus sericesthis</i>	<i>Sericesthis pruinosa</i>	Coleoptera	[21]
3	<i>Iridovirus chilo</i>	<i>Chilo suppressalis</i>	Lepidoptera	[23]
4	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes taeniorhynchus</i>	Diptera	[19]
5	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes contans</i>	»	[50]
6	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes annulipes</i>	»	[50]
7	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes fulvus pallens</i>	»	[12]
8	<i>Iridovirus simulium</i>	<i>Simulium ornatum</i>	»	[52]
9	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes vexans</i>	»	[17]
10	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes detritus</i>	»	[47]
11	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes stimulans</i>	»	[11]
12	<i>Iridovirus corethrella</i>	<i>Corethrella brakeleyi</i>	»	[18]
13	<i>Iridovirus aedes</i>	<i>Aedes caspius dorsalis</i>	»	[3]
14	<i>Iridovirus wiseana</i>	<i>Wiseana cervinata</i>	Lepidoptera	[22]

В IV группу вирусов — *Parvovirus* входит представитель вирусов насекомых — вирус дензонуклеоза вошинной моли (*Galleria mellonella*), вызывающий болезнь «плотных ядер» [33]. По своим основным свойствам вирус дензонуклеоза близок к типовому виду этой группы вирусов — латентному крысиному вирусу (*Kilham*). При заболевании гусениц большой вошинной моли дензонуклеозом в ядрах больных гусениц наблюдаются плотные, фельген-положительные тела, состоящие из скоплений вирионов.

Вирионы содержат 35% однонитчатой ДНК с молекулярным весом 4—5 млн. Вирионы представляют собой изометрические, лишенные оболочки частицы, 20—23 нм в диаметре, икосаэдрической формы. Пока достоверно известен только один вид вируса — *Densonucleosisvirus Galleria*.

Криптограмма этого вируса выглядит следующим образом:

[Д/1: (4—5)/35: S/S: I/O].

На рис. 9 показаны ядра большой вошинной моли (*Galleria mellonella*), пораженные вирусом дензонуклеоза [33].

Лебедева с соавторами [5] сообщили о морфологически сходном вирусе в лабораторных культурах комаров *Aedes aegypti*. В гипертрофированных ядрах жировой ткани больных личинок IV возраста наблюдались характерные плотные, фельген-положительные тела. При дифференциальном центрифугировании больных личинок комаров авторы обнаружили изометрические частицы размером 20 нм (рис. 10).

В V группу вирусов включены представители вирусов насекомых — реовирусы (*Reovirus*). К этой группе относятся вирусы цитоплазматического полиэдроза насекомых, образующие в чувствительных тканях (эпителии кишечника) белковые кристаллические включения в цитоплазме клеток. Типичным представителем этой группы является вирус цитоплазматического полиэдроза тутового шелкопряда — *Bombyx mori* L.

Вирионы этого вируса содержат 16—30% двунитчатой РНК с молекулярным весом 13—18 млн. Вирионы представляют собой икосаэдры с d около 60 нм. Криптограмма этих вирусов следующая:

[R/2: Σ 13—18/16—30: S/S: I/O].

Σ во второй паре означает, что РНК представлена суммой фрагментов с молекулярным весом 13—18 млн.

Цитоплазматические полиэдрозы широко распространены у насекомых. К 1968 г. было описано уже около 100 вирусов цитоплазматического полиэдроза, поражающих в основном Lepidoptera (85), меньше — Hymenoptera (12) и всего несколько случаев — Diptera (2) и Neuroptera (2).

На рис. 11 и 12 представлены полиэдры и вирионы вирусов цитоплазматических полиэдрозов.

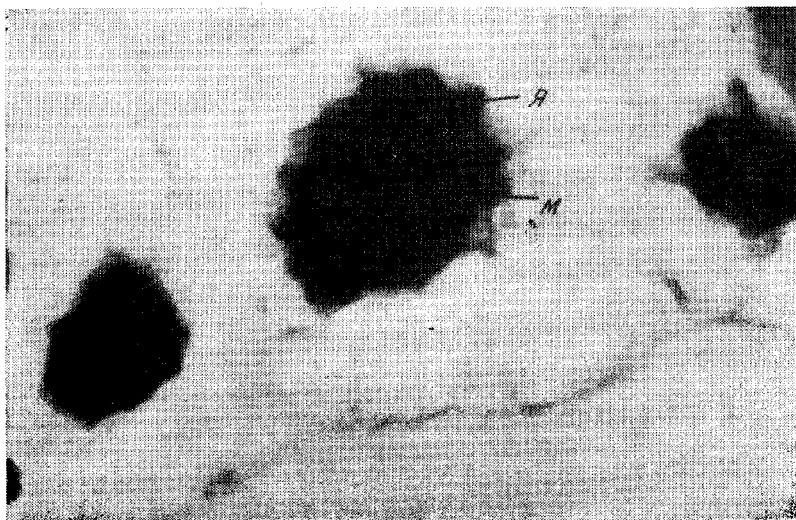


Рис. 9. Ядра большой вошинной моли (*Galleria mellonella*), пораженные вирусом дензонуклеоза. Световой микроскоп imp. я — ядро, м — плотная масса [10]

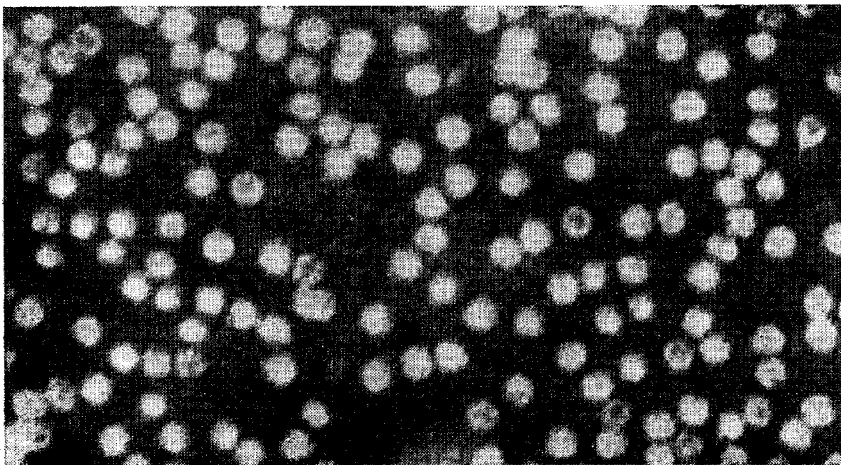


Рис. 10. Вирус дензонуклеоза комара *Aedes aegypti*. $\times 200\,000$ [5]. Фото Л. П. Бучацкого

VI группа вирусов, в которую входит как возможный член вирус сигма дрозофилы — *Drosophila melanogaster*, носит название Rhabdovirus. Этот вирус помещен в группу рабдовирусов благодаря сходству с вирусом везикулярного стоматита по своеобразной, пулевидной форме и размерам вирионов. Вирус сигма дрозофилы вызывает у мух повышенную чувствительность к CO_2 . Какие-либо другие повреждения насекомых неизвестны. При контакте даже в течение нескольких секунд с CO_2 мухи погибают. Мухи, несущие вирус, живут и откладывают яйца, подобно устойчивым мухам. Вирус передается потомству инфицированными самками. Кроме формы вирионов, почти ничего не известно об этом вирусе. Криптограмма Rhabdovirus drosophila выглядит пока следующим образом:

$$[*/*: */*: U/*: 1/0],$$

где U — продолговатая форма вирионов с закругленными углами.

Следует отметить, что в эту группу включается значительное число поражающих растения вирусов (>12), свойства вирионов которых также почти не изучены.

Наконец, VII группа вирусов насекомых относится к энтеровирусам (Enterovirus), поражающим кишечник насекомых. Типовым видом этой группы является вирус полиомиелита первого типа. Наиболее близок к этой группе вирус острого паралича пчел. Вирус содержит 25% одонитчатой РНК с молекулярным весом 2 млн. Вирионы представляют собой изометрические частицы икосаэдральной симметрии, 20—30 нм в диаметре, и локализуются в цитоплазме. К вирусу острого паралича пчел очень близок по свойствам вирус мешотчатого расплода пчел. Приводим криптограмму Enterovirus apis:

$$[R/1: 2/25: S/S: 1/0].$$

На рис. 13 и 14 представлены электронографии вирусов острого паралича пчел и мешотчатого расплода пчел. Сравнительно недавно у *Drosophila melanogaster* был описан вирус Р [36]. Икосаэдрические частицы этого вируса имеют размеры 25 нм и содержат РНК [41].

Таким образом, мы рассмотрели семь групп вирусов насекомых, которые входят в настоящее время в единую классификацию вирусов. Это группы Baculovirus, Poxvirus, Iridovirus, Parvovirus, Reovirus, Rhabdovirus и Enterovirus.

ТРУДНОСТИ КЛАССИФИКАЦИИ ВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ

На пути классификации вирусов насекомых по свойствам вирионов имеется еще много трудностей из-за малой изученности этих свойств. Даже для типовых видов этих групп иногда отсутствуют данные об основных свойствах вирионов, как, напри-

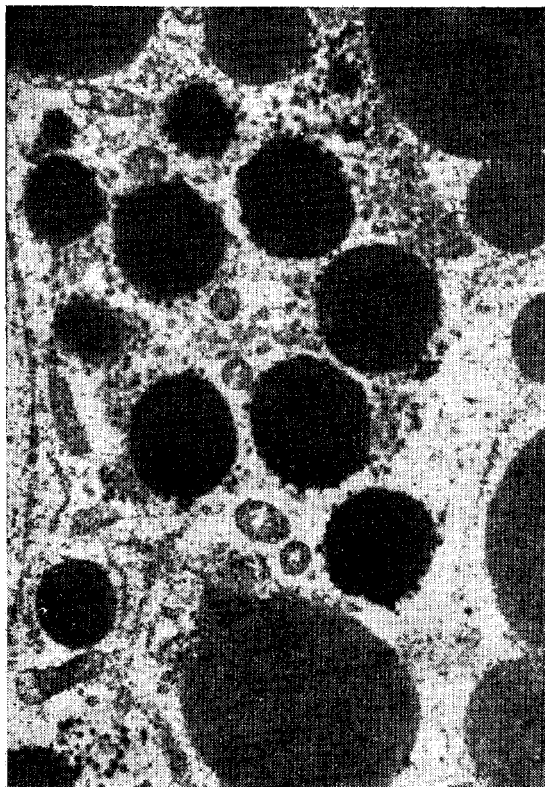


Рис. 11. Полиэдры в цитоплазме клеток кишечного эпителия соснового кисте-хвоста (*Orgia pseudotsuga*-ta). Ультратонкий срез [31]

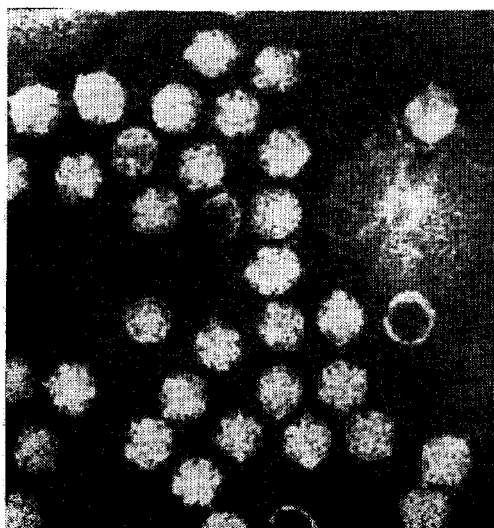


Рис. 12. Вирионы цитоплазматических полиэдров *Orgia leucostigma*. $\times 100\,000$ [31]

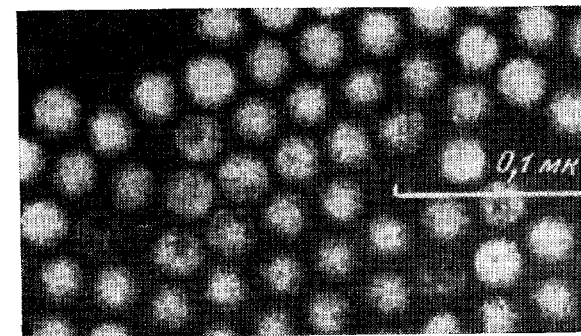


Рис. 13. Вирус острого паралича пчел (*Apis mellifera*) [12]

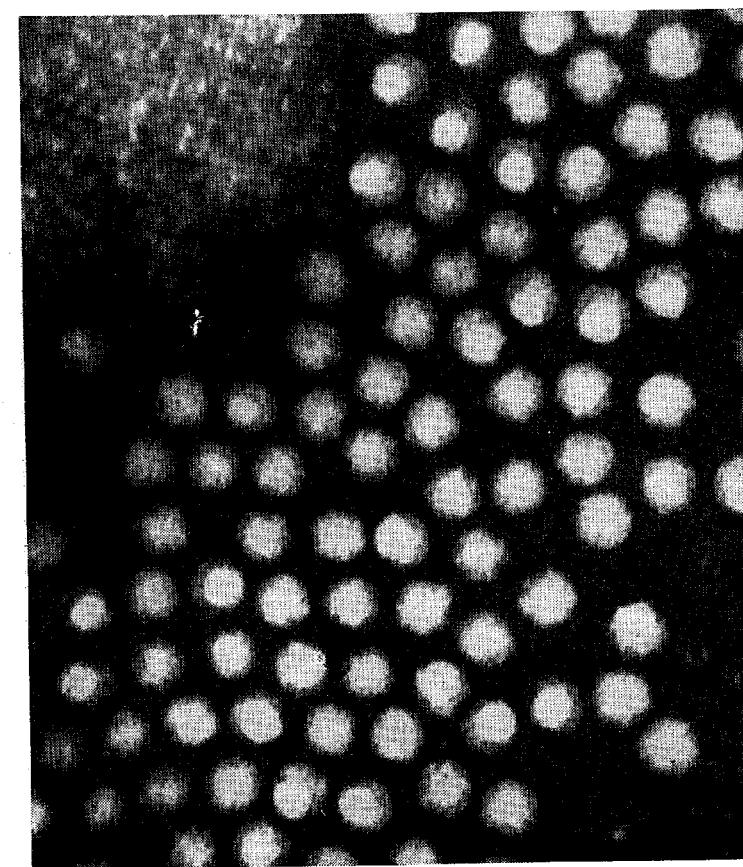


Рис. 14. Вирус мешотчатого расплода пчел [13]

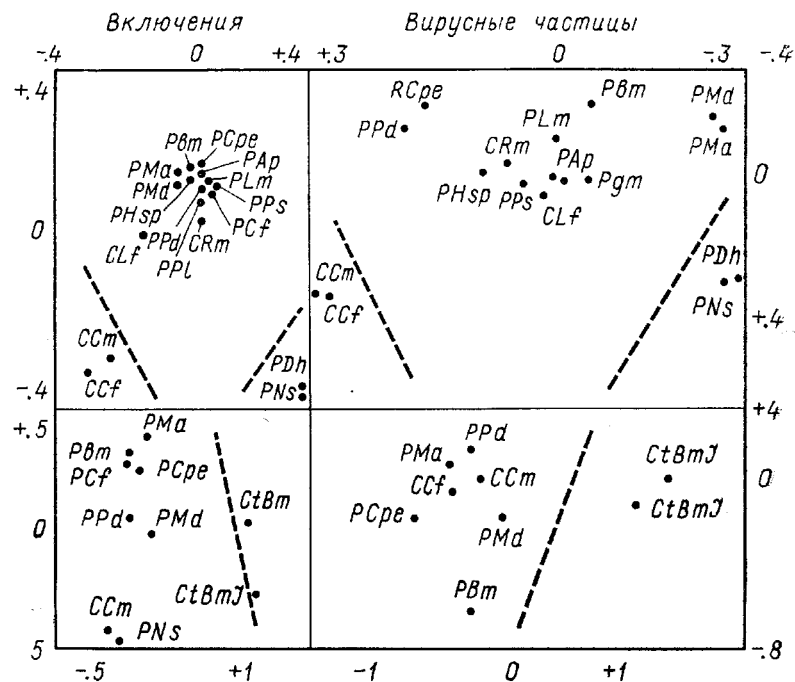


Рис. 15. Карта координатного анализа включений и вирусных частиц вирусов насекомых по Беллет [14]
P — ядерные полиэдры, *C* — гранулезы, *Ct* — цитоплазматические полиэдры. Следующие буквы обозначают род и вид насекомого

мер, для вирусов оспы насекомых или вируса сигма дрозофилы. Тем не менее вирусы насекомых, этот многочисленный и интересный отряд вирусов, не могут оставаться в вакууме, и нужно надеяться, что в ближайшие годы изучение свойств вирионов вирусов насекомых позволит с большей точностью их классифицировать. Следует подчеркнуть, что классификация вирусов насекомых может быть основана только на совокупности признаков вирионов, а не на одном признаке, хотя бы и имеющем очень важное значение.

Интересную классификацию вирусов насекомых предложил австралийский ученый Беллет [14]. В основу классификации он положил отношения оснований нуклеиновых кислот вирусов и их молекулярный вес.

Основываясь на том, что последовательность оснований нуклеиновых кислот определяет последовательность и свойства аминокислот и, следовательно, белков, Беллет предполагает, что серологические взаимоотношения вирусов и состав их аминокислот будут в свою очередь соответствовать классификации вирусов, в основу которой положено отношение оснований нук-

леиновых кислот. Посмотрим, что получится в результате такой классификации.

Для классификации Беллет использовал компьютер и провел координатный анализ, дав карту распределения вирусов на гомологичные группы. Приводим карту распределения вирусов, составленную Беллетом (см. рис. 15).

На карте координатного анализа в верхнем ряду дано распределение вирусов после обработки данных по перекрестным серологическим реакциям, в нижнем ряду — по аминокислотному составу вирусов; в левой части — для телец включений, в правой — для вирусных частиц. Точками обозначены вирусы с их символами, где *P* означает ядерный полиэдроз, *C* — гранулез, а *Ct* — цитоплазматический полиэдроз, после чего идут символы, обозначающие латинские названия насекомого-хозяина.

Из полученного распределения автор делает вывод о том, что его теория классификации более правильно систематизирует вирусы насекомых, чем существующие до сих пор системы. Однако если проанализировать полученные результаты, мы увидим много несоответствий. Так, например, из четырех исследованных вирусов гранулеза два вируса гранулеза попали вместе с вирусами ядерных полиэдрозов, два же других вируса гранулеза листовёрток (*Choristoneura murinana* и *Choristoneura fumiferana*) попали совсем в другую, резко отличную группу. Такое положение оказалось одинаковым и для телец-включений, и для вирусных частиц.

Ядерный полиэдроз тутового шелкопряда по данным аминокислотного состава далеко отстоит от других вирусов ядерного полиэдроза, в то время как у этого вируса отношение оснований нуклеиновых кислот одинаково с американским кольчатым шелкопрядом (*Malacosoma americanum*).

Все это свидетельствует о том, что если в основу брать только один признак (нуклеотидный состав), то нельзя получить правильной системы вирусов.

Таким образом, трудности классификации вирусов объясняются недостатком наших знаний о свойствах вирионов этих вирусов.

Список вирусов насекомых непрерывно увеличивается. Если, по данным Игноффо [29], насчитывалось около 300 вирусов насекомых и они распределялись таким образом, что вирусы полиэдрозов и гранулезов занимали подавляющую часть всех известных вирусов (см. табл. 2), то в настоящее время общее число известных вирусов превысило 400.

Открыты новые группы вирусов, такие, как *Entomorphovirus*, и число описанных представителей этих вирусов быстро растет у разных видов, родов и отрядов насекомых. Расширяется описание представителей уже известных вирусов. Значительное число недавно описанных вирусов насекомых, не заключающихся в белковые кристаллы, не могут быть еще отнесены с определен-

ностью к одной из семи основных групп вирусов. К таким вирусам относятся в первую очередь те, для которых мы не знаем еще даже типа нуклеиновой кислоты: летаргия майского хруща (*Melolontha melolontha*), вирусное заболевание луговой совки (*Cirphis unipuncta*), паралич сверчков (*Gryllus bimaculatus*), паралич крабов (*Macrobrachium deceptor* и *Carcinus maenas*), майская болезнь индийского жука (*Oryctes rhinoceros*) и др. [43]. Несомненно, что с развитием техники исследований эти вирусы найдут свое место в общей классификации царства *Vira*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайдамович С. Я., Жданов В. М. 1972. Вопросы вирусол., № 3, 361.
2. Гайдамович С. Я. 1971. Вопросы мед. вирусол., № 11, 5.
3. Ермакова Г. И. 1972. Докл. ВАСХНИЛ, № 11, 36.
4. Жданов В. М., Коренблит Р. С. 1950. ЖМЭИ, № 9, 40.
5. Лебедева О. П., Зеленко А. П., Кузнецова М. О., Гудзь-Горбань О. П. 1972. Микробиол. ж., 34, 1, 70. Киев.
6. Рыжков В. Л. 1950. Вопросы мед. вирусол., № 3, 5.
7. Рындовская Ю. Л., Тарасевич Л. М., Авакян А. А. 1972. Вопросы вирусол., № 2, 200.
8. Тарасевич Л. М. 1973. Изв. АН СССР, сер. биол., № 5, 696.
9. Турнье П., Львов А. 1966. IX Междунар. конгресс по микробиол., стр. 302. М.
10. Amargier A., Vago C., Meynadier G. 1965. Archiv. Ges. Virusforsch., 15, 659.
11. Anderson J. F. 1970. J. Invert. Pathol., 5, 219.
12. Bailey L., Gibbs A. J., Woods R. D. 1963. Virology, 21, 390.
13. Bailey L., Gibbs A. J., Woods R. D. 1964. Virology, 23, 425.
14. Bellet A. J. D. 1967. J. Gen. Virol., 1, 583.
15. Bergold G. H., Aizawa K., Smith K. M., Steinhaus E. A., Vago C. 1960. Intern. Bull. Bacteriol. Nomenclat. Taxonomy, 10, 259.
16. Bird F. T., Sanders C. J., Burke J. M. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 159.
17. Chapman H. C., Clark T. B., Woodard D. B., Kellen W. R. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 545.
18. Chapman H. C., Clark T. B., Anthony D. W., Glenn F. E. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 284.
19. Clark T. B., Kellen W. R., Lum P. T. M. 1965. J. Invert. Pathol., 7, 519.
20. Cunningham J. C., Burke J. M., Arif B. M. 1973. Canad. Entomol., 105, 767.
21. Day M. F., Mercer E. H. 1964. Austr. J. Biol. Sci., 17, 892.
22. Fowler M., Robertson J. S. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 154.
23. Fukaya M., Nasu S. 1966. Appl. Entom. Zool., 1, 69.
24. Goodwin R. H., Filshie B. K. 1969. J. Invert. Pathol., 13, 317.
25. Hall D. W., Anthony D. W. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 61.
26. Henry J. E., Nelson B. P., Jutila J. W. 1969. J. Virol., 3, 605.
27. Holmes F. O. 1948. Bergeys Manual of determin. Bacteriology, p. 122, Baltimore.
28. Huger A. M., Krieg A., Emschermann P., Götz P. 1970. J. Invert. Pathol., 15, 253.
29. Ignoffo C. M. 1968. Current Topics in Microbiol. and Immunol., 42, 129.
30. Krieg A. 1961. Grundlagen der Insectpathologie Viren-Rickettsien- und Bakterien — Infektionen. Darmstadt, Dietrich Steinkopff, 18, 304.
31. Krywienzyk J., Hayashi J., Bird F. T. 1969. J. Invert. Pathol., 13, 144.
32. Lipa J. J. 1963. «Wirusy owadow». Postepy Microbiol., 2, 63.
33. Meynadier G., Vago C., Plantevin G., Atger P. 1964. Rec. Zool. Agr. Appl., 63, 207.
34. Meynadier G., Fosset J., Vago C., Duthoit L., Brès N. 1968. Ann. Epiph., 19, 703.
35. Morris O. N. 1963. Canad. J. Microbiol., 9, 899.
36. Plus N., Duthoit J. L. 1969. Compt. rend. l'Acad. Sci., 268, 2313.
37. Roberts D. W., Granados R. R. 1968. J. Invert. Pathol., 12, 141.
38. Smirnov W. A. 1964. J. Insect Pathol., 6, 384.
39. Steinhaus E. A. 1949. Bact. Rev., 13, 203.
40. Sutter G. R. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 375.
41. Teninges D., Plus N. 1972. J. Gen. Virol., 16, 103.
42. Vago C. 1963. J. Insect Pathol., 5, 275.
43. Vago C. 1968. Current Topics in Microbiol. and Immunol., 42, 24.
44. Vago C., Monsarrat P., Duthoit J. L., Amargier A., Meynadier C., Waerbeke D. 1968. Comp. Rend. Acad. Sci., 266, 3.
45. Vago C., Amargier A., Hurpin B., Meynadier C., Duthoit J. L. 1968. Entomophaga, 13, 373.
46. Vago C., Robert P., Amargier A., Duthoit J. L. 1969. Mikroskopie, 25, 378.
47. Vago C., Rioux J. A., Duthoit J. L., Dedet J. P. 1969. Ann. Parasit. Hum. Comp., 44, 667.
48. Videnova E., Sengalevitch G. 1966. Gradin. lozar. Nauka, 3, 31.
49. Weiser J. 1958. Parasit., 5, 203.
50. Weiser J. 1965. Bull. Org. Mons. Sante, Bull. Wld. Hlth. Org., 33, 586.
51. Weiser J., Vago C. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 314.
52. Weiser J. 1968. J. Invert. Pathol., 12, 36.
53. Weiser J. 1969. Acta Virologica, 13, 549.
54. Wildy P. 1971. In «Monographs in Virology», 5. N.-Y.
55. Xeros N. 1954. Nature, 174, 562.

СИМПТОМЫ И ПАТОГЕНЕЗ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ НАСЕКОМЫХ

Попадая в организм насекомого, вирусы вызывают патологический процесс, который выражается специфическими изменениями в тканях и органах, в изменении их метаболизма и появлении определенных внешних симптомов заболевания. Обычно последние появляются позже, чем наступают внутренние патологические изменения.

В настоящее время методы электронной микроскопии и молекулярной биологии позволяют изучать патологические изменения в пораженном насекомом на субклеточном и молекулярном уровнях, однако представляет большой интерес и изучение этих изменений методами гистологии, гистохимии и биохимии. Эти методы позволяют получить, как бы обзорные снимки процессов, происходящих в различных тканях больных насекомых, и установить локализацию вируса.

Необходимо подчеркнуть, что все сведения о патологии насекомых, добытые с помощью гистологии и гистохимии, не были опровергнуты более совершенными методами исследований, а лишь углублены и расширены ими.

СИМПТОМЫ И ПАТОГЕНЕЗ ЯДЕРНЫХ ПОЛИЭДРОЗОВ И ГРАНУЛЕЗОВ НАСЕКОМЫХ (BACULOVIRUS)

Полиэдросы и гранулезы поражают главным образом личиночные стадии насекомых. Внешними симптомами заболевания являются пожелтение или побеление покровов, отсутствие аппетита у гусениц, некоторая одутловатость тела и, наконец, гибель гусениц, сопровождающаяся размягчением и лизисом тканей. Лизис тканей происходит столь быстро, что через несколько часов от погибших гусениц остается в буквальном смысле «мокрое место» (рис. 16 а, б). Часто у медленно передвигающихся гусениц лопаются покровы, и из них вытекает молочно-белая гемолимфа, переполненная миллионами белковых включений — полиэдров или гранул.

В природных условиях больные гусеницы часто цепляются ложноножками за ветки деревьев и свисают с них вниз головой (рис. 17).

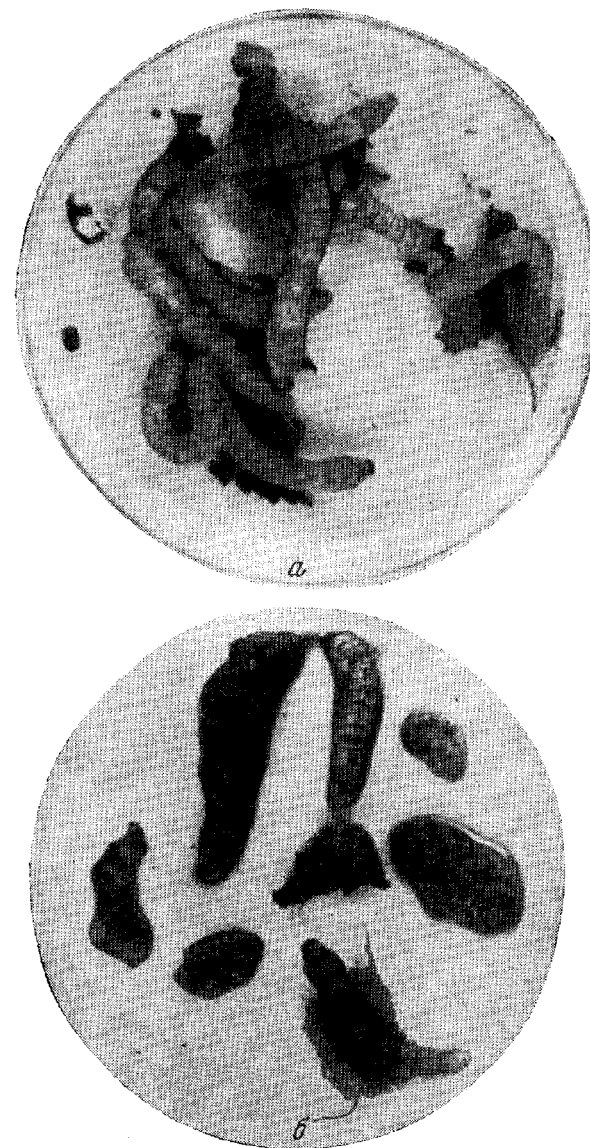


Рис. 16. Гусеницы тутового шелкопряда (*Bombyx mori*)

а — здоровые, б — погибшие от ядерного полиэдроза (виден лизис тканей гусениц).
Оригинал

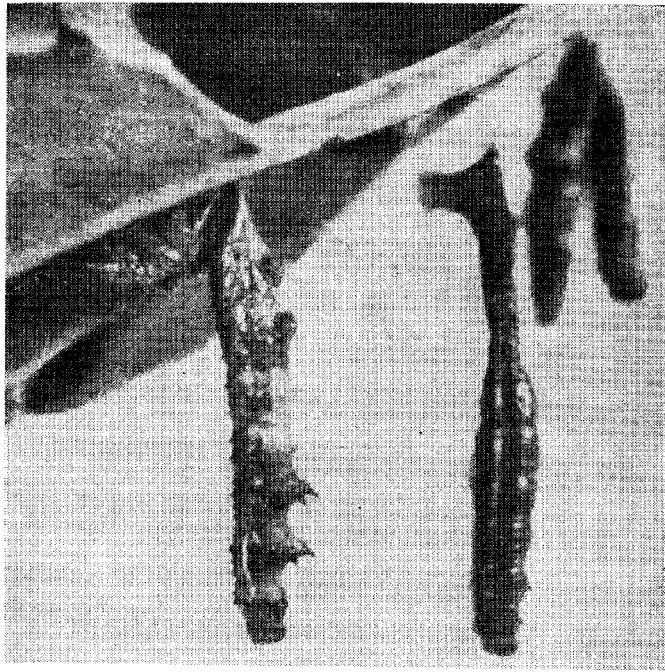


Рис. 17. Гусеницы капустной белянки (*Pieris brassicae*), погибшие от гранулеза. $\times 3$ [67]

При полиэдрозах обычно поражается гиподерма, трахеальный матрикс, жировое тело и гемолимфа. На гистологических срезах гусениц, инфицированных полиэдрозом, уже на третьи сутки можно наблюдать значительные изменения (рис. 18, *a—e*). Прежде всего в клетках чувствительных тканей происходит резкая гипертрофия ядер: они становятся в 2—4 раза крупнее нормальных. Хроматин ядер образует несколько крупных глыбок, ярко окрашивающихся по Фельгену (специфическая окраска на ДНК). Количество ядрышек увеличивается. В дальнейшем ядрышки исчезают, окраска хроматиновых глыбок бледнеет, и между ними и оболочкой ядра возникает светлая кольцевая зона, в которой появляются очень мелкие полиэдры. Полиэдры быстро увеличиваются в размере и числе, заполняя собой все ядро. «Молодые» очень мелкие полиэдры могут быть легко окрашены любой гистологической краской. По мере роста полиэдров они теряют способность окрашиваться без специальной предварительной обработки. Заполнив все ядро, полиэдры разрывают его оболочку и попадают в гемолимфу, омывающую все органы и ткани насекомых. Вскоре после этого наступает гибель гусениц. Продолжительность инкубационного периода обычно

составляет 7—12 дней, варьируя в зависимости от возраста гусениц, дозы вируса, температуры окружающей среды и др.

Обычно поражаются не все клетки насекомого одновременно, поэтому на срезе можно видеть клетки с различной степенью поражения и совершенно здоровые.

В патологии насекомых много данных было получено при изучении тутового шелкопряда, пораженного ядерным полиэдрозом, так называемой желтухой, причиняющей большой экономический урон на промышленных выкормках тутового шелкопряда [19]. Для общего обзора изменений, происходящих в пораженных тканях, обычно используется окраска гистологических срезов железным гематоксилином по Гайденгайну с подкраской эозином.

У гусениц *Orgyia pseudotsugata*, инфицированных вирусом ядерного полиэдроза, наблюдаются все типичные признаки этого заболевания, свойственные другим представителям отряда чешуекрылых [52, 53].

Гусеницы фиксировались в жидкости Буэна через каждые 4 час. после инфицирования, затем из них готовились парафиновые срезы, которые окрашивались железным гематоксилином с эозином. На 4-й день после инфицирования в клетках жирового тела наблюдалась гипертрофия ядер и коагуляция хроматина. На 6-й день в периферической и центральной частях ядер жирового тела, трахей и гиподермы появлялись мелкие полиэдры. Наблюдались также многочисленные «кольцевые зоны» в ядрах. Через 2 дня после этого наступала гибель гусениц.

У погибших гусениц все поражаемые ткани были разрушены, а кровяные клетки, *neurilemma* брюшной нервной струны и сегментальные ганглии были тяжело инфицированы. Подобные патологические изменения наблюдались и при ядерном полиэдрозе *Lambdina fiscellaria lugubrosa*.

Недавно был изолирован новый вирус ядерного полиэдроза, вызывающий гибель вредителя соевых плантаций в южных областях США, — *Pseudalitia includens* [31]. Гибель гусениц наступала через 5—7 дней. Течение патологических изменений было типичным для ядерных полиэдрозов.

Среди личинок комаров *Culex tarsalis*, собранных в природе и культивирующихся в лаборатории, часто наблюдалась гибель. Личинки не распределялись нормально в воде, были неактивными и собирались у поверхности в тесные группы по 10—50 штук. Брюшки большинства личинок были ненормально изогнуты, или S-образной формы. На кутикуле выступали черные пятна около 50—100 мк в диаметре. На срезах, окрашенных по Гайденгайну или в фазово-контрастном микроскопе, в ядрах гиподермальных клеток, клеток развивающихся конечностей, клеток крыльев и зачатках антенн присутствовали тетрагональные полиэдры. Обычно в ядре находилось по 1—2 полиэдра, иногда их число доходило до 16.

Заболевание было удачно передано личинкам I и II возрастов с кормом, а личинкам IV возраста — инъекцией гемолимфы от больных личинок в брюшко. В погибших личинках через 8 дней появлялись характерные симптомы болезни и обнаруживались кубоидальные включения [43].

У взрослых самок кузнечика *Melanopus sanguinipes* был обнаружен вирус ядерного полиэдроза. Тетрагональные полиэдры развивались в жировом теле. Инкубационный период был

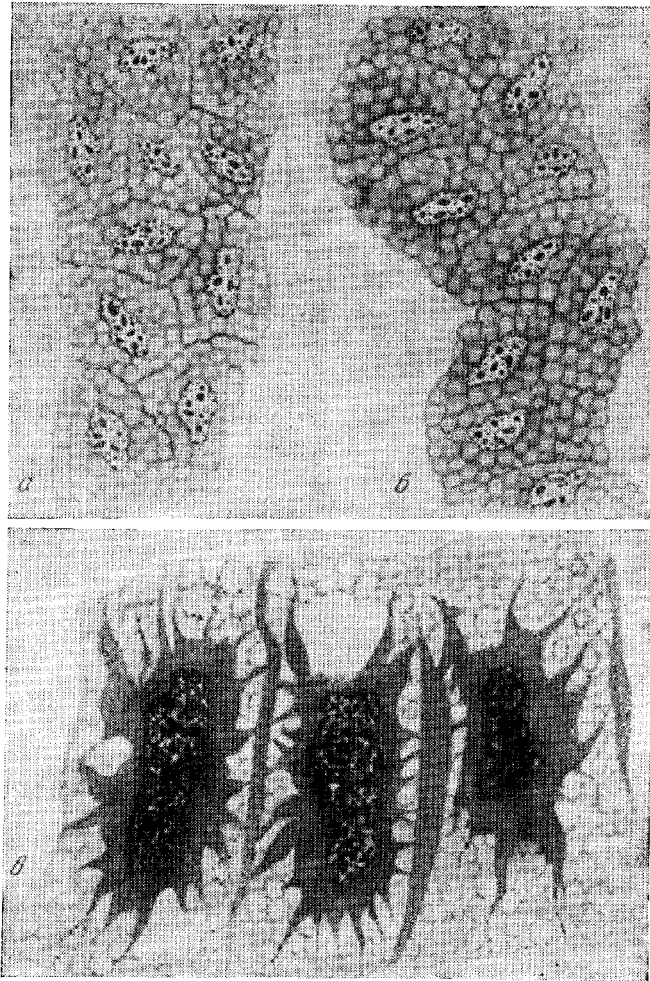
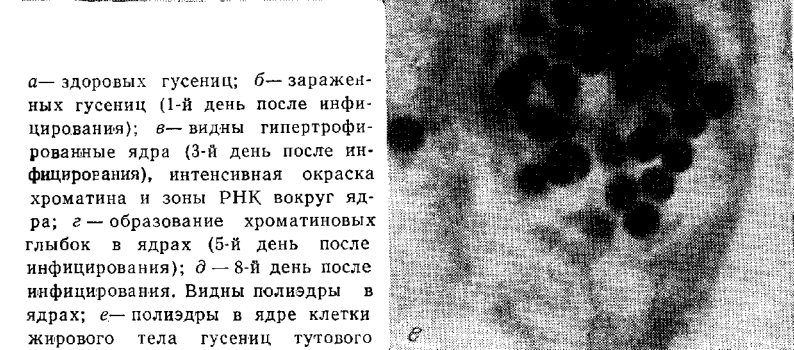
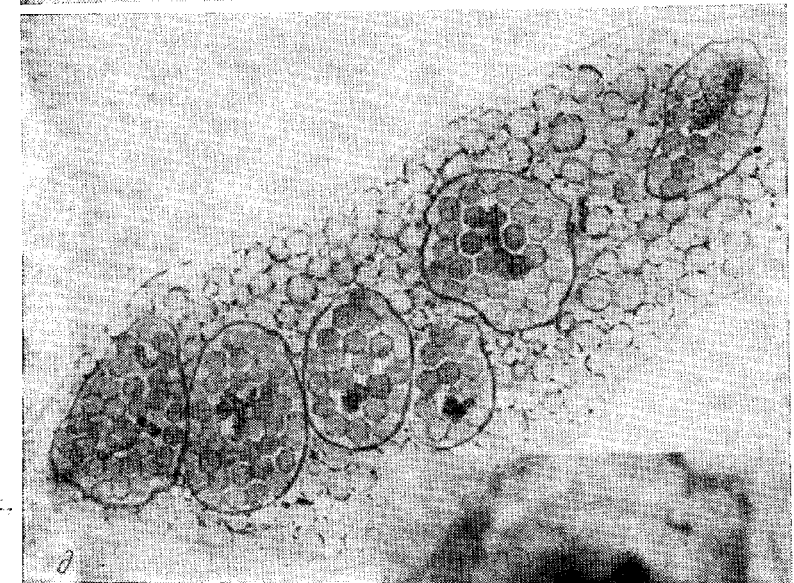
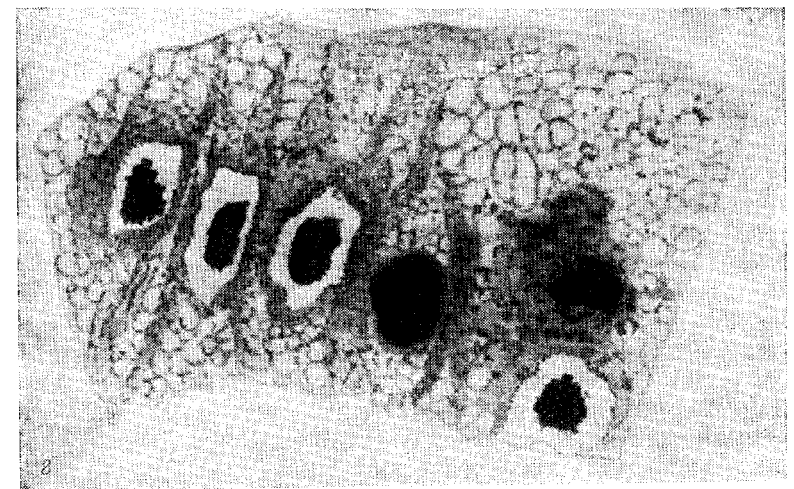


Рис. 18. Жировая ткань гусениц тутового шелкопряда (*Bombyx mori*) V возраста после инфицирования их ядерным полиэдрозом. Световой микроскоп, иммерсия, гистологические срезы



а— здоровых гусениц; б— зараженных гусениц (1-й день после инфицирования); в— видны гипертрофированные ядра (3-й день после инфицирования), интенсивная окраска хроматина и зоны РНК вокруг ядра; г— образование хроматиновых глыбок в ядрах (5-й день после инфицирования); д— 8-й день после инфицирования. Видны полиэдры в ядрах; е— полиэдры в ядре клетки жирового тела гусениц тутового шелкопряда. Оригинал

равен 12 дням. Вирус успешно пассировался в 4-серийных пассажах [40].

У гусениц вредителя клена (*Pandemis lamprosana*) III—IV возрастов, инфицированных вирусом ядерного полиэдроза через корм, каждые 2—3 дня готовились срезы тканей для анализа происходящих изменений. Через 4 дня после инфицирования в ядрах жирового тела наблюдалась коагуляция хроматина, а на 8-й день хорошо были видны вновь образованные полиэдры. Вскоре после этого инфекция распространялась на гиподерму и трахеальный матрикс. На 10-й день «кольцевые зоны» наблюдались в кровяных клетках. В это время гусеницы прекращали питаться и окраска их тела изменялась от зеленой до кремово-желтой. Инфицированные ядра были гипертрофированы. На 10—12-й день после инфицирования гусеницы погибали [66].

Сходная картина патологических изменений наблюдается и у гусениц *Operophtera bruceata* [65] и *Malacosoma alpicola* [29]. Инфекция начинается в ядрах жирового тела и проявляется появлением зернистости. Через 3—4 дня наблюдается коагуляция хроматина и появление полиэдров, сопровождающееся гипертрофией ядер. Вскоре полиэдры появляются в гиподерме и трахеальном матриксе насекомого. На этой стадии гусеницы перестают питаться, и окраска их тела меняется от светло-зеленой до светло-желтой, ядра клеток гемолимфы наполняются полиэдрами, и через 1—2 дня после этого гусеницы погибают [65].

Примеры развития патологических изменений в тканях гусениц, пораженных ядерным полиэдрозом, показывают сходство этих изменений у самых разных видов насекомых.

При изучении гусениц капустной метелювидки (*Trichoplusia ni*), инфицированных вирусом ядерного полиэдроза общего типа, кроме поражения обычных тканей, было обнаружено присутствие полиэдров в кишечнике гусениц. Эти полиэдры морфологически отличались от обычных полиэдров. Они были крупнее по размерам и содержали пучки вирионов, а не отдельные палочки. Электронномикроскопическая проверка показала присутствие полиэдров в столбчатых клетках среднекишечного эпителия уже на 2—3-й день после инфицирования, в то время как в других тканях полиэдры появлялись только на 3—4-й день [39]. Авторы считают, что в этом случае имеются два различных вида вируса, однако возможно, что это и один вид вируса, морфология которого зависит от рода ткани, в которой он формируется.

При изучении путей проникновения вируса ядерного полиэдроза в ткани гусениц тутового шелкопряда [3] с помощью метода автордиографии было показано, что после скармливания гусеницам меченных радиоактивным фосфором полиэдров, через 48 час. после инфицирования метка обнаруживается и накапливается в межклеточном пространстве среднего отдела кишечника, но не в ядрах клеток. Далее вирус проникает в оболочки клеток трахей, несколько позднее — в жировое тело. Радиоактивные

зерна присутствовали в оболочках клеток мужских и женских гонад, но отсутствовали в оболочках шелкоотделительной железы. Авторы предполагают, что вирусные частицы проникают в гемолимфу из кишечника по межклеточным пространствам.

ПАТОГЕНЕЗ ЯДЕРНЫХ ПОЛИЭДРОЗОВ КИШЕЧНИКА

Насекомые пилильщики из отряда Hymenoptera (перепончатокрылые) поражаются ядерными полиэдрозами, но полиэдры развиваются только в ядрах эпителия среднего отдела кишечника. Поэтому, одним из первых симптомов заболевания гусениц является молочно-белая окраска брюшных сегментов, вытекания из рта молочно-белой жидкости, а из анального отверстия — темно-коричневых капелек.

Молочно-белую окраску брюшных сегментов (между 3-м и 5-м) легко спутать с симптомом цитоплазматического полиэдроза, однако у пилильщиков на срезах пораженных гусениц хорошо видна ядерная локализация полиэдров в отличие от цитоплазматических полиэдров.

У пилильщика *Neodiprion swainci* (Hymenoptera: Tenthredinidae), опасного вредителя сосновых лесов Канады, полиэдры развиваются в ядрах среднекишечного эпителия, но в случаях особенно тяжелой инфекции могут поражаться примыкающие к средней кишке области переднего и заднего отделов. Инфицированные гусеницы теряют аппетит, через несколько дней зеленая окраска их тела желтеет, кишечник приобретает беловатый оттенок и хрупкость, и гусеницы вскоре погибают.

Гулий [5] подробно изучал патогенез и патоморфологию кишечного полиэдроза осинового (тополевого) волосатого пилильщика — *Cladius viminalis*. На 4—5-й день после инфицирования больные личинки прекращают питаться. В остром периоде болезни из анального отверстия выделяется светлая жидкость, оставляющая на листьях белый след. Жидкость содержит огромное количество полиэдров, сильно варьирующих по форме. Кутикула личинок приобретает желтоватый оттенок и остается прочной в течение всего периода болезни. Больные личинки укорачиваются и прочно прикрепляются к листовой пластинке клейкой жидкостью, выделяющейся из ануса. Через 24—48 час. личинки погибают.

В эпителии средней кишки наблюдается сильная гипертрофия клеточных ядер (ядра увеличиваются в 1,5—2 раза), и кишечник выглядит белым от просвечивающихся ядер, наполненных вирусными включениями.

На 5-й день после инфицирования диаметр клеток жирового тела значительно уменьшается за счет резкого сокращения запасов липидов. Существенные изменения претерпевают клетки гемолимфы. Происходит резкое уменьшение количества гемоцитов и нарастание числа отмирающих и мертвых клеток.

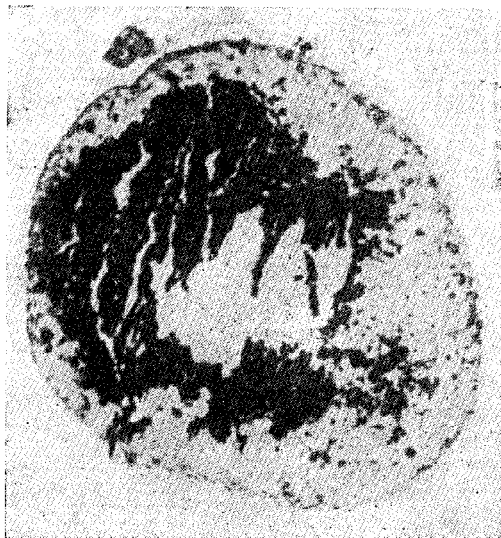


Рис. 19. Срез через опухолеподобное тело у *Alsophila pometaria* [61]

Через 24 часа после инфицирования в ядрах образуются хроматиновые тяжи, ядрышки разбухают, ядра гипертрофируются и в них появляется светлая периферическая кольцевая зона. В этой зоне и в некоторых центральных участках ядра начинается формирование мельчайших полиэдров, которое заканчивается через 35—40 час. Созревшие полиэдры разрывают оболочку ядра и выходят в цитоплазму, попадая главным образом в просвет кишечника.

Сходные патологические изменения описаны при ядерных полиэдрозах других пилильщиков — *Trichiosampus viminalis* и *Gilpinia hercyniae* [25]. Говоря о патологических изменениях при ядерных полиэдрозах пилильщиков, нельзя не сказать о явлении опухолообразования у них, которое многими исследователями связывается с вирусной инфекцией.

У значительного числа видов насекомых известны и описаны опухоли. Известны спонтанные опухоли у дрозофилы и опухоли, вызванные различными опухолообразующими агентами. Подробный обзор об опухолях у насекомых можно найти в работе Херкер [37].

У насекомых опухолевидные образования впервые наблюдались у елового пилильщика — *Diprion hercyniae* [30]. Предполагалось, что они индуцируются исключительно вирусной инфекцией.

Типичные опухоли пилильщиков обычно наблюдаются в брюшной полости, но могут встречаться везде в теле насекомого.

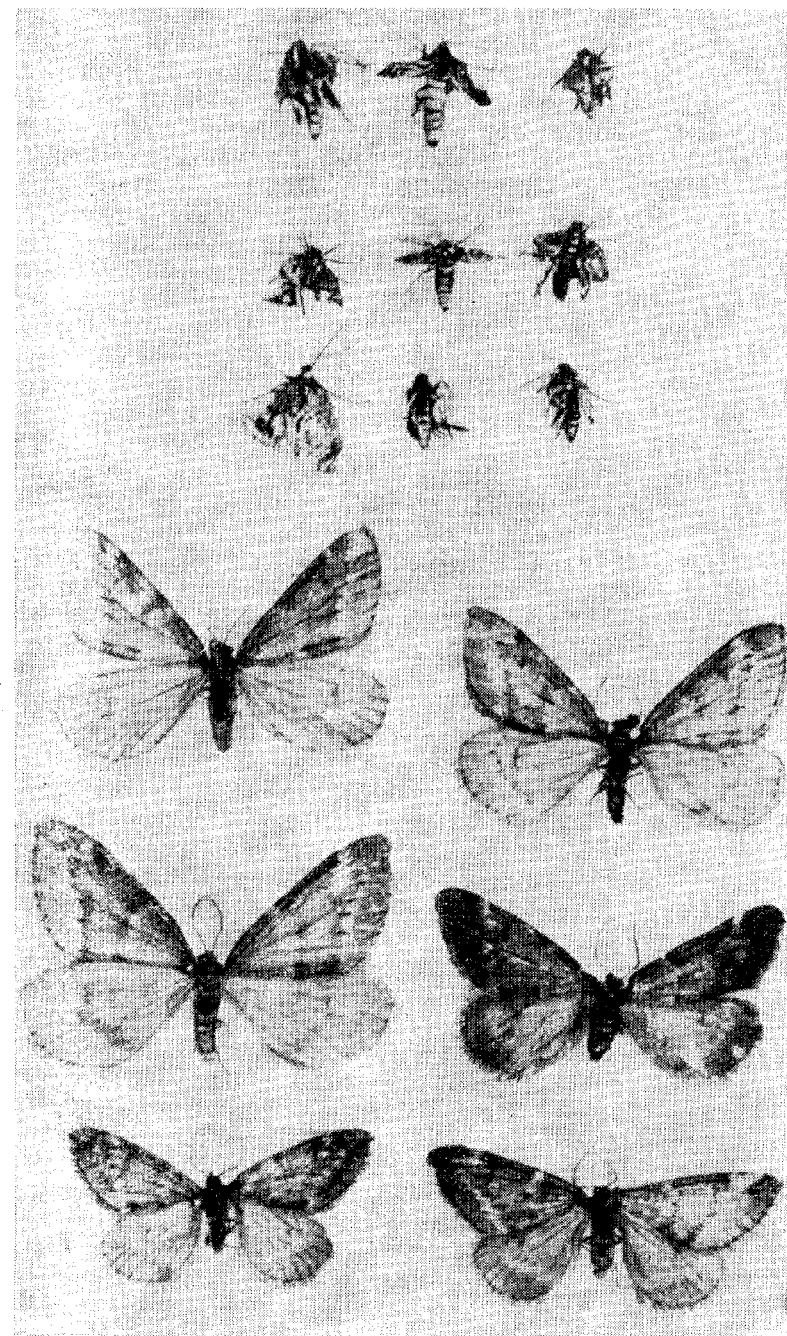


Рис. 20. Уродства самцов *Alsophila pometaria* в результате инфицирования гусениц вирусом цитоплазматического полиэдроза. Вверху — больные, внизу — здоровые [61]

Они или приклеиваются в средней кишке, или свободно плавают в гемоцеле либо в просветах кишечника. Размеры опухолей 0,5—1,5 мм, они неправильной формы, от коричневого до черного цвета, но иногда разрастаются и занимают все брюшко насекомого. В одном насекомом может встречаться 1—6 опухолей (рис. 19). Опухоли у пилильщиков не согласуются с медицинским понятием опухоли, поэтому их более правильно называть «опухолевидные структуры» или «псевдоопухоли». У пилильщиков «опухоли» состоят как бы из трех слоев: (1) сердцевины, состоящей из клеточных дебрис, одетых твердым, темным слоем меланина (2). Меланин покрыт несколькими слоями веретеновидных клеток (3) (рис. 19).

Рост «опухолей» у пилильщиков всегда связан с инкапсуляцией определенного отрезка кишечного эпителия, и поэтому «опухоли» похожи на капсулы, которые образуются многими насекомыми как защитная реакция от внутренних паразитов.

У инфицированных взрослых насекомых центральная сердцевина «опухоли» состоит из частично разрушенных эпителиальных клеток средней кишки, которые наполнены полиэдрами. Однако до сих пор неясна связь между вирусной инфекцией и опухолеобразованием у пилильщиков.

Нейлсон и Илги [62] наблюдали опухолевидные образования у взрослых насекомых елового пилильщика, свободных от вируса как в лабораторных, так и в природных условиях. Авторы проверили 1200 особей свободных от вируса имаго и в 140 нашли «опухоли» (11%), но полиэдров не было.

О связи полиэдроза рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer*) с наличием «опухолей» в природных популяциях этого насекомого сообщал финский исследователь Нуортева [63].

Гулий [6] изучал частоту встречаемости опухолеподобных образований (псевдоопухолей) у различных видов перепончатокрылых насекомых, собранных в различных районах Томской и Новосибирской областей. У двух видов паразитических перепончатокрылых и трех видов пилильщиков псевдоопухоли отсутствовали. У имаго трех других видов перепончатокрылых (*Aspilota nemoralis*, *Diprion similis* и *Rhogogaster virides*) эти образования присутствовали в 0,5—1% случаев. У рыжего соснового пилильщика псевдоопухоли встречались в 18% случаев. В толще псевдоопухолей у взрослых особей вредителя обнаружены полиэдры. Однако не было получено данных о прямой связи между опухолеобразованием и вирусной инфекцией.

Таким образом, вопрос о корреляции между опухолеобразованием у пилильщиков и вирусной инфекцией остается пока еще открытым. Следует заметить, что отсутствие полиэдров у насекомого еще не может рассматриваться как окончательный критерий отсутствия в нем вируса, который может находиться в какой-либо иной форме (вирусные частицы, инфекционная нуклеиновая кислота, вирусный антиген).

Мнение о том, что опухоли пилильщиков являются защитной реакцией насекомого на вирусную инфекцию, не согласуется с фактом присутствия их у свободных от вируса насекомых.

Как бы ни решился окончательно вопрос о происхождении опухолей у насекомых, их вредный эффект на насекомых является полезным для человека (уменьшение размеров насекомых, уменьшение их плодовитости и др.).

При гранулезе насекомых внешние признаки заболевания сходны с признаками заболевания ядерным полиэдрозом. Наблюдается изменение окраски тела, отсутствие аппетита, вялость. Обычно при гранулезах поражаются те же ткани насекомых, которые поражаются и при полиэдрозах, и в первую очередь жировое тело.

При гранулезе капустной металлоидки (*T. ni*) не было отмечено поражения гиподермы [36]. Напротив, при гранулезе американской белой бабочки (*Hyphantria cunea*) гиподерма поражалась интенсивнее других тканей [21].

При поражении гранулезом капустной белянки (*Pieris brassicae*) внешние симптомы заболевания очень сходны с симптомами при ядерных полиэдрозах. Поражается гиподерма, жировое тело, трахеальный матрикс и гемолимфа. Тело гусениц разжижается. В природных условиях можно наблюдать висящих вниз головой гусениц, зацепившихся задними ложноножками за листья (см. рис. 15).

У репной белянки (*Pieris rapae*) и яблонной плодовой (*Carposarsa pomonella*) брюшные покровы становятся беловато-опаловыми при заболевании гранулезом.

Описаны случаи размножения гранул в среднекишечном эпителии гусениц виноградной пестрянки (*Harrisina brillans*) гусениц капустной металлоидки (*T. ni*) и др. [70].

Ранее считалось, что гранулы развиваются только в цитоплазме пораженных тканей. Однако многие исследователи наблюдали развитие гранул в ядрах клеток. Так, гранулы развивались в ядрах клеток гиподермы и жирового тела *Natada nararia*, капустной белянки (*P. brassicae*), капустной металлоидки (*T. ni*) и луговой совки (*Pseudaletia unipuncta*) [67]. У пихтовой листовертки (*Choristoneura murinana*) гранулы развивались и в ядре, и в цитоплазме [41].

Подробное описание патологических изменений при инфекциях гранулезом можно найти в обзоре Хюгера [42].

При гранулезах, так же как и при полиэдрозах, наблюдается пролиферация клеток и ядер и исчезновение ядрышек. В ядре и цитоплазме хорошо просматривается интенсивно окрашивающаяся по Фельгену сеть, в которой появляется масса гранул. Эту сеть многие исследователи считают вироплазмой и ее распространение по всей клетке приводят как доказательство одновременного образования гранул и в ядре, и в цитоплазме.

Патологические изменения при гранулезе озимой совки (*Agrotis segetum*) описаны Дикасовой [7] и Липа [49].

При гранулезе шишковой огневки (*Diorychtria abietella*) наблюдались поражения жирового тела, гиподермы, кишечного эпителия [8]. Клетки и ядра пролиферировались, цитоплазма вакуолизировалась, наблюдалась агрегация хроматина в ядрах и затем формирование гранул.

При изучении гистологических срезов гусениц американской белой бабочки (*H. cunea*), инфицированных гранулезом, уже на 1—2-й день после заражения наблюдается пролиферация клеток и гипертрофия ядер.

Такие же признаки можно видеть при гранулезах *Eucosma griseana*, *Spodoptera frugiperda*, *Choristoneura murinana*. Позже в ядрах развивается сеть, интенсивно окрашивающаяся по Фельгену, и происходит разрыв ядерной оболочки. При этом материал ядра смешивается с компонентами цитоплазмы.

Неоспоримые доказательства о месте размножения гранул представили Ватанабе и Кабаяши [73], используя метод автофотографии.

Гусеницам наряду с гранулами вводился меченный по водороду тимидин. Через определенные промежутки времени готовились радиоавтографы срезов инфицированных гусениц.

Уже на 1—2-й день после инфицирования в ядрах клеток жировой ткани наблюдалось большое количество тимидиновой метки, что говорило об интенсивном синтезе ДНК в ядрах. В более поздней стадии инфекции, при образовании интенсивно окрашивающейся сети в ядре, радиоактивная метка наблюдалась и в этой сети, а затем рассеивалась и в область цитоплазмы.

Эти опыты подтвердили гистологические данные о том, что развитие гранул начинается в ядре и продолжается в цитоплазме.

ИЗМЕНЕНИЯ, ПРОИСХОДЯЩИЕ В ГЕМОЛИМФЕ НАСЕКОМЫХ ПРИ ПОЛИЭДРОЗАХ И ГРАНУЛЕЗАХ

Гемолимфа насекомых совмещает в себе черты и функции крови и лимфы позвоночных. Она заполняет полость тела насекомых и омывает их органы. Гемолимфа крайне лабильна и чувствительна к внешним и внутренним воздействиям. Клеточные элементы гемолимфы насекомых представлены свободными клетками — гемоцитами. Даже самые незначительные воздействия на насекомых отражаются на картине их крови, изменяя ее в количественном и качественном отношении.

Гемолимфа представляет одну из чувствительных тканей, поражаемых вирусной инфекцией при полиэдрозах и гранулезах насекомых, и естественно, что клетки гемолимфы претерпевают существенные изменения под влиянием вирусной инфекции.

У насекомых главным типом иммунитета является клеточный иммунитет, и фагоцитоз осуществляется чаще всего клетками крови [11]. Наибольшая роль в фагоцитозе принадлежит макронуклецитам (фагоцитам, веретенновидным и круглым клеткам).

Изменения, происходящие в кровяных клетках при ядерном полиэдрозе тутового шелкопряда, изучались Ованесян [9]. У гусениц III и IV возрастов японской породы наблюдалось закономерное увеличение количества макронуклецитов в крови и уменьшение микронуклецитов (питающих клеток). Количество пролейкоцитов (молодых незрелых клеток) у инфицированных гусениц увеличивалось в несколько раз. По мере развития инфекционного процесса эти изменения выглядят более отчетливо, и на 6-й день после инфицирования количество макронуклецитов возрастает вдвое, пролейкоцитов — втрое, а число микронуклецитов падает в 21 раз. Сфероциты и эноциты вообще исчезают из гемолимфы.

Изменения в формуле крови, происходящие под влиянием ядерного полиэдроза у гусениц и бабочек дубового шелкопряда (*Anthraea pernyi*), подробно изучались Сиротиной [15]. Эти изменения являются настолько характерными, что могут служить, по мнению данного автора, в качестве метода ранней диагностики полиэдроза у бабочек на гребенных заводах.

Еще задолго до появления в кровяных клетках полиэдров наблюдается резкое уменьшение в крови зрелых клеток и массовое появление молодых незрелых форм. Почти полностью прекращается процесс созревания клеток, происходит отмирание защитных клеток, ведущих борьбу с вирусом (фагоцитов и микронуклецитов). Появляется большое количество мертвых молодых и защитных клеток.

Изменения состава клеток крови особенно хорошо заметны у бабочек при полиэдрозе, так как в норме они не содержат молодых клеток, а их жизнедеятельность поддерживается микронуклеоцитами. При инфицировании полиэдрозом у бабочек появляется большое количество молодых клеток, ведущих борьбу с вирусом, уменьшается количество микронуклеоцитов и появляются мертвые молодые и защитные клетки. Красная зернистость в ядрах гемоцитов при окраске по Гимза служит показателем начавшегося процесса отмирания клеток.

По нашим наблюдениям, общее число гемоцитов у гусениц тутового шелкопряда при их инфицировании ядерным полиэдрозом падает в 3 раза против здоровых гусениц [16].

Таким образом, при полиэдрозе общее количество гемоцитов уменьшается, процесс созревания клеток нарушается, число зрелых форм уменьшается, а число молодых клеток увеличивается.

Айзава [22] исследовал инфекционность гемолимфы гусениц тутового шелкопряда, пораженных ядерным полиэдрозом. В конце логарифмической фазы размножения вируса и в начале

стационарной фазы гемолимфа гусениц обладала высокой инфекционностью, но не содержала вирусных частиц, типичных для вируса ядерного полиэдроза. Однако с помощью дифференциального центрифугирования при высоких и низких оборотах и последующей очистке в градиенте хлористого цезия удалось изолировать сферические частицы с $d=20$ нм и плавучей плотностью, равной $1,367 \text{ г/см}^3$. Они оказались высокоинфекционными для гусениц тутового шелкопряда. Айзава предполагает, что эти частицы могут быть субъединицами вируса.

ВЛИЯНИЕ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА РАЗВИТИЕ НАСЕКОМЫХ

Заражение вирусом полиэдроза может влиять на гормональную деятельность насекомого, что влечет за собой различные нарушения в стадиях развития насекомых и часто приводит их к гибели.

У *Orgyia pseudotsugata* и *Lambdina fiscellaria somnaria* соответствующие вирусы ядерного полиэдроза вызывают преждевременное развитие признаков имаго. У инфицированных гусениц IV и V возрастов преждевременно появляются усики, ротовые части, передние ноги, характерные для имаго. В мозгу гусениц уменьшается количество нейросекреторных продуктов, и одновременно оно увеличивается в сохрога *allata*. Гусеницы с такими патологическими изменениями перестают потреблять корм и приблизительно через неделю умирают. У личинок *O. pseudotsugata*, *L. fiscellaria somnaria* брюшные нервные ганглии и нервная струна бывают тяжело поражены вирусом полиэдроза. Такое поражение, по-видимому, косвенно влияет на баланс гормонов, так как эти ткани регулируют активность сохрога *allata* через нейросекреторную систему. Возможно, что при этом нарушается выработка ювенильного гормона, контролирующего личиночную стадию насекомого. Преждевременное появление признаков имаго у личинок, инфицированных ядерным полиэдрозом, указывает на ненормальное увеличение ростового гормона — экдизона [58]. На рис. 20 представлены самцы *Alsophila pometaria*, погибшие от вируса цитоплазматического полиэдроза [61].

ИЗУЧЕНИЕ ОБМЕНА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ У НАСЕКОМЫХ, ПОРАЖЕННЫХ ЯДЕРНЫМ ПОЛИЭДРОЗОМ

Из всех типов обмена, происходящих в пораженном насекомом, особый интерес представляет нуклеиновый обмен. Важность изучения нуклеинового обмена диктуется инфекционной природой вирусов, обусловленной присутствием в них инфекционной нуклеиновой кислоты ДНК или РНК. В настоящем разделе мы рассмотрим изменения нуклеиновых кислот, происходящие при ин-

фицировании гусениц ядерными полиэдрозами на клеточном и субклеточном уровнях. Биохимия вирусов насекомых и их нуклеиновые кислоты будут рассмотрены в главе IX.

Изучение нуклеинового обмена больных гусениц может проводиться разными методами. К таким методам относятся прежде всего различные реакции окрашивания гистологических срезов гусениц, специфические на присутствие ДНК или РНК. Общепринятой специфической гистохимической реакцией на ДНК служит окраска по Фельгену, а на РНК — реакция Браше [13]. Реакция Фельгена основана на том, что при умеренном кислотном гидролизе освобождаются альдегидные группы, которые восстанавливают окраску фуксина, обеспечивая сернистым ангидридом. При слабом гидролизе гистологического препарата и обработке его реактивом Фельгена структуры, содержащие ДНК, окрашиваются в фиолетовый цвет.

Окраска по Браше основана на двойной покраске срезов метиловым зеленым — пиронином. Метиловый зеленый окрашивает в сине-зеленые тона структуры, содержащие ДНК, а пиронин — в розовые тона структуры, содержащие РНК. Специфичность розовой окраски пиронином проверяется обработкой срезов ферментом РНК-азой. Розовая окраска исчезает в том случае, если она действительно была обусловлена присутствием РНК.

Другим методом изучения нуклеинового обмена пораженных вирусной инфекцией гусениц может служить люминесцентная микроскопия срезов гусениц в синих и УФ-лучах, окрашенных акридиновым оранжевым. Акридиновый оранжевый краситель при определенных значениях pH дает специфическое свечение ДНК (зеленым) и РНК (оранжевым), обусловленное образованием комплексов этого красителя с нуклеиновыми кислотами.

Авторадиография является также одним из интересных и перспективных методов изучения патологии вирусных инфекций насекомых вообще и нуклеинового обмена в частности. Этот метод заключается во введении радиоактивной метки насекомым с кормом или инъекциями и в нанесении чувствительной фотоэмульсии на срезы пораженных гусениц. В местах накопления радиоактивного изотопа его радиоактивное излучение будет действовать на чувствительную фотоэмульсию, давая почернение зерен серебра эмульсии.

Подсчитывая количество темных зерен серебра на единицу площади цитоплазмы или ядра, можно судить о количестве накопившегося в данном месте изотопа. Так, например, с помощью радиоактивного уридина Моррис изучал изменения РНК у гусениц *Barathra brassicae* [56].

Наконец, изучать нуклеиновый обмен в гусеницах можно с помощью метаболитов и антиметаболитов нуклеинового обмена. Усиливая известное звено в обмене нуклеиновых кислот с помощью метаболитов или, наоборот, подавляя его антиметаболи-

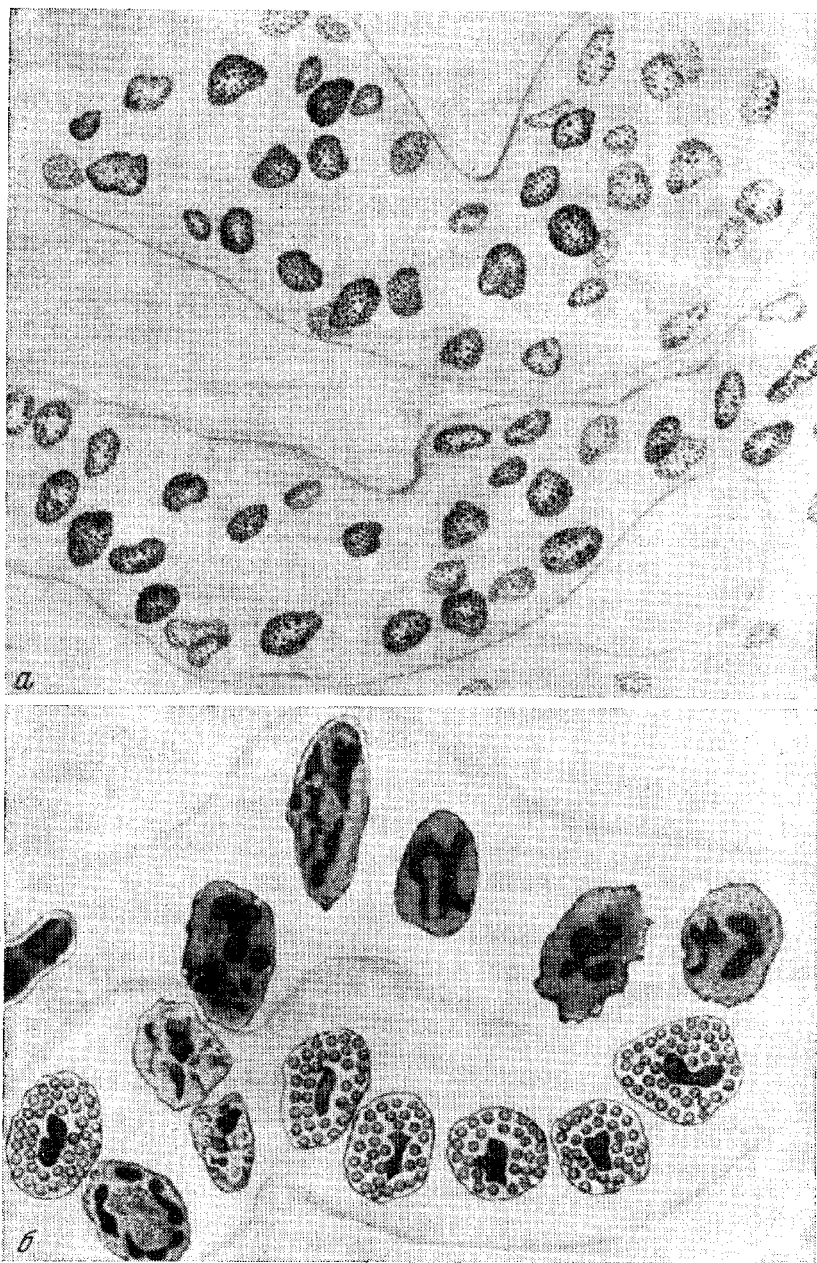


Рис. 21. Ядра клеток жировой ткани гусениц тутового шелкопряда
а — здоровых, б — больных. Световой микроскоп, иммерсия, гистологические срезы, окраска по Фельгену. Оригинал

том, можно получить информацию о процессах, связанных с размножением вируса.

Гистохимия нуклеинового обмена гусениц, пораженных ядерным полиэдрозом, подробно изучалась у тутового шелкопряда [14, 17, 32].

На рис. 21, а, б представлены оригинальные фотографии срезов жировой ткани здоровых и больных полиэдрозом гусениц тутового шелкопряда V возраста, окрашенных по Фельгену. Ядра здоровых гусениц содержат хроматин в виде зернышек, нормально красящихся по Фельгену в фиолетовый цвет (рис. 21, а).

Сильно гипертрофированные ядра больных полиэдрозом гусениц гораздо интенсивнее окрашиваются по Фельгену, что свидетельствует о накоплении в ядрах ДНК. В ядрах, где полиэдры еще не образовались, видно скопление интенсивно окрашенных хроматиновых глыбок. Все ядро наполнено ДНК. В ядрах, где полиэдры уже образовались, интенсивность окраски ослабевает, и в ядре остается совсем немного хроматинового материала (рис. 21, б). «Молодые» полиэдры окрашиваются слабо положительно по Фельгену.

На рис. 18, а — е представлены фотографии срезов через жировое тело гусениц тутового шелкопряда V возраста, окрашенных по Браше.

В 1-й день после инфицирования гусениц цитоплазма клеток окрашивается пиронином в розовый цвет, ядрышки — в красный, а хроматин ядра — в синий. Окраска контрольных гусениц не отличается от зараженных полиэдрозом.

На 5-й день после инфицирования ядра и клетки сильно гипертрофированы (см. рис. 18, в, г), ядрышки увеличены в размере, хроматин ядра ярко окрашивается метиловым зеленым. Вокруг ядер образуются ярко окрашенные пиронином кольца, что свидетельствует об интенсивном обмене нуклеиновых кислот между ядром и цитоплазмой.

На 8-й день после инфицирования в ядрах многих клеток образуются полиэдры, которые не прокрашиваются ни метиловым зеленым, ни пиронином (см. рис. 18, д). В других ядрах, где полиэдры еще не образовались, можно наблюдать интенсивно красящиеся метиловым зеленым глыбки хроматина и остатки колец РНК вокруг ядер.

У гусениц тутового шелкопряда младших возрастов реакции Фельгена и Браше позволили выявить резкие изменения в нуклеиновом обмене при фиксации здоровых и больных полиэдрозом гусениц через каждые сутки после инфицирования. Через сутки после заражения клетки хозяина резко обедняются нуклеиновыми кислотами, и восстановление нормальной окраски ядра и цитоплазмы происходит на третьи сутки перед появлением полиэдров в ядрах (у гусениц I возраста уже на третьи сутки начинается формирование полиэдров) [20]. Таким образом, при ядерном полиэдрозе нуклеиновые кислоты хозяина претерпевают

значительные изменения. Вирус, внедрившись в организм насекомого, подавляет его нормальный нуклеиновый обмен и перестраивает его на свой лад.

У гусениц *Lambdina fiscellaria somnaria* по мере развития ядерного полиэдроза Моррис [52] наблюдал нарастание ДНК, определяемое реакцией Фельгена, вплоть до 6—7-го дня после инфицирования гусениц (до образования полиэдров). Параллельно увеличивалось и количество белка (окрашивание желтым нафтолом S). В противоположность увеличению количества ДНК и белка наблюдалось резкое уменьшение количества гликогена в жировой ткани гусениц, что может объясняться резким потреблением запасов жирового тела при полиэдрозе.

Увеличение содержания ДНК при ядерном полиэдрозе наблюдали многие исследователи [28, 34, 78]. Моррис показал также нарастание количества ядерной и цитоплазматической РНК при ядерном полиэдрозе гусениц *L. f. somnaria*, которое продолжалось вплоть до образования полиэдров в ядрах [54].

Люминесцентная микроскопия широко используется в вирусологии для изучения взаимодействия вируса с клеткой. Акридиновый оранжевый, взаимодействуя с двунитчатой ДНК при pH 5,5—6, образует комплекс, дающий зеленое свечение в синих и Уф-лучах; РНК дает красно-оранжевое свечение. Очень яркие картины в обмене нуклеиновых кислот можно наблюдать, используя окраску срезов пораженных гусениц акридиновым оранжевым и изучая их в люминесцентном микроскопе.

Насекомых, пораженных вирусной инфекцией, этим методом изучали Армстронг и Нивен [24], Гулий [4], Ованесян [10], Уланова [20]. Люминесцентная микроскопия гусениц тутового шелкопряда I возраста показала изменения в обмене нуклеиновых кислот при полиэдрозе, адекватные изменениям, полученным с помощью специфических гистохимических реакций Фельгена и Браше [20]. В то время как в контрольных срезах наблюдалась яркая люминесценция ядер зеленым, цитоплазмы — красным, ядрышек — ярко-красным, у инфицированных полиэдрозом гусениц через 1—2 суток после заражения наблюдалось тушение люминесценции и препарат выглядел тусклым и однотонным. На третьи сутки, когда в отдельных ядрах обнаруживались полиэдры, яркая люминесценция клеток восстанавливалась. Хроматиновые глыбки светились ярко-зеленым, цитоплазма — красным. На четвертые-пятые сутки, когда почти все ядра были переполнены полиэдрами, остатки хроматина давали зеленое свечение, а сами полиэдры светились слабо-зеленым.

Подобная же характерная люминесценция ядер и цитоплазмы наблюдалась при ядерном полиэдрозе американской белой бабочки.

При поражении гранулезом этого вредителя в отличие от полиэдроза свечение цитоплазмы не было красным, а преобладало зеленое или желтое свечение и сильная вакуолизация цито-

плазмы. Многие клетки и ядра были разрушенными. По-видимому, зелено-желтая люминесценция цитоплазмы объясняется присутствием в ней гранул, которые люминесцируют зеленым [21].

Таким образом, с помощью методов гистохимии и люминесцентной микроскопии можно проследить патогенез вирусных инфекций насекомых и изучить изменения, происходящие в метаболизме гусениц. Изменения других типов обмена под влиянием вирусной инфекции насекомых описаны разными авторами, но число этих работ незначительно. Между тем такие исследования могли бы пролить свет на проблему гистотропизма, ярко выраженную у вирусов насекомых.

БИОХИМИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ГУСЕНИЦ, ПОРАЖЕННЫХ ЯДЕРНЫМ ПОЛИЭДРОЗОМ

Фракционирование и определение различных групп фосфорных соединений здоровых и больных ядерным полиэдрозом гусениц тутового шелкопряда показали, что при полиэдрозе увеличивается общее содержание фосфора гусениц, однако оно возрастает не за счет фосфора нуклеопротеидной фракции, куда входит вирус, а за счет фосфора кислоторастворимых соединений.

Оказалось, что при полиэдрозе суммарное количество ДНК и РНК одинаково у здоровых и больных гусениц, но у больных гусениц при полиэдрозе происходит перераспределение нуклеиновых кислот: количество ДНК увеличивается, а количество РНК уменьшается [17].

По данным Гершензона с сотрудниками, при инфицировании гусениц вирусами ядерного полиэдроза (ДНК-типа) в клетках гусениц накапливается инфекционная РНК, способная вызвать образование соответствующего ДНК-вируса при введении ее в восприимчивого хозяина [2]. Инфекционность РНК снималась РНК-азой, но не ДНК-азой. Было сделано предположение о возможной передаче генетической информации от РНК к ДНК. Такой путь генетической информации принципиально не исключен, однако хорошо известно, что у насекомых широко распространены латентные инфекции, которые легко могут активироваться [1]. Кроме того, в полиэдрах присутствует в значительных количествах РНК, связанная с их инфекционными свойствами [18].

Поэтому для признания передачи информации от РНК к ДНК при ядерном полиэдрозе тутового шелкопряда необходимы строгие доказательства отсутствия РНК самих полиэдров и латентного вирусоносительства.

СИМПТОМЫ И ПОРАЖЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ ВИРУСАМИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО ПОЛИЭДРОЗА (REOVIRUS)

Внешними признаками заболевания гусениц цитоплазматическим полиэдрозом являются потеря аппетита, отставание в росте, иногда у личинок наблюдаются несоразмерная с телом большая голова или длинные щетинки. В продвинутых стадиях инфекции гусеницы меняют окраску на беловатую с меловым оттенком, особенно на брюшной стороне тела, что объясняется просвечиванием массы образовавшихся полиэдров через покровы кишечника (рис. 22). Позднее полиэдры часто освобождаются из лопнувших покровов гусениц или выходят с фецес.

Полиэдры образуются в цитоплазме эпителиальных клеток среднего отдела кишечника. По мере развития инфекции полиэдры распространяются по всему пищеварительному каналу и могут быть обнаружены в клетках переднего и заднего отделов кишечника.

У *Thaumetopoea wilkinsoni* на срезах гусениц, пораженных вирусом цитоплазматического полиэдроза, обнаруживается значительная гипертрофия клеток среднекишечного эпителия, содержащих большое количество полиэдров. Когда полиэдры заполняют всю клетку, они разрушают оболочку и выходят в просвет средней кишки. Эти изменения наблюдаются только в столбчатых клетках кишечного эпителия [67].

Сходные изменения наблюдались и при инфицировании вирусом цитоплазматического полиэдроза гусениц *Operophtera brumata*, *Alsophila pometaria*, *Nymphalis antipoda*, *Erannis tiliaria*, изолированным из гусениц *Vanessa cardui* [60].

В том случае, если эти виды гусениц инфицировались вирусом в последней стадии развития, большой процент взрослых особей погибал от цитоплазматического полиэдроза с характерными признаками этого заболевания. Так, в случае с *A. pometaria* из 96 бабочек 95 оказались больными, в случае с *N. antipoda* из 206 бабочек заболела 101, а в случае с *O. brumata* из 72 бабочек — 45. Полиэдры у взрослых особей развивались только в эпителии средней кишки. Средняя величина больных насекомых была меньше, чем здоровых. Интересно, что у всех исследованных насекомых были обнаружены опухолеподобные образования (как у самцов, так и у самок). Эти образования по внешнему виду были похожи на «опухоли», описанные нами при ядерном полиэдрозе кишечника у пилильщиков (см. стр. 400).

Симптомы цитоплазматического полиэдроза у непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*) наблюдал в природе Вебер [72]. В дубовых лесах средней Словакии во время вспышки этого вредителя встречались гусеницы, фецес которых имел белый цвет.

Под световым микроскопом можно было наблюдать в фецес большое количество полиэдров. Инфицированные гусеницы теряли аппетит и вскоре погибали. Кишечник таких гусениц имел

молочно-белый цвет. После фиксации больных гусениц и окраски гистологических срезов по Эрлиху и железным гематоксилином оказалось, что полиэдры присутствуют только в цитоплазме клеток эпителия кишечника. Вебер не наблюдал одновременного присутствия в клетках цитоплазматических и ядерных полиэдров.

Сходные внешние признаки заболевания цитоплазматическим полиэдрозом наблюдались у гусениц *Triphaena proreba* [48]. Гусеницы отставали в росте, были вялыми и теряли аппетит. На брюшной стороне гусениц появлялась беловатая окраска. На гистологических срезах, окрашенных по Гимза (с предварительной обработкой срезов 96%-ным этанолом и 3%-ной HNO_3), в цитоплазме клеток кишечного эпителия можно было видеть множество полиэдров, окрашенных в интенсивно красный цвет на фоне светло-голубой цитоплазмы. Обычно полиэдры располагались вокруг ядра.

У капустной совки (*Varathra brassica*) цитоплазматический полиэдроз вызывает заболевание хронического характера с медленным течением. Наиболее характерным симптомом болезни является выход из кишечника полиэдров вместе с кишечным эпителием. Продолжительность жизни и плодовитость взрослых особей, происходящих из больных гусениц, сохраняются на нормальном уровне, но оплодотворенность яиц уменьшена и потомство оказывается инфицированным [51].

Таким образом, внешние симптомы заболевания насекомых цитоплазматическими полиэдрами очень сходны с заболеваниями ядерными полиэдрозами кишечника у пилильщиков, однако локализация полиэдров в цитоплазме клеток, свойства вирионов и тип нуклеиновой кислоты (РНК) резко отличают их от этой группы вирусов.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГУСЕНИЦАХ, ПОРАЖЕННЫХ ВИРУСАМИ ОСПЫ НАСЕКОМЫХ (ENTOMOROVIRUS)

Внешними симптомами этой инфекции являются размягчение и ослабление тела личинок, их побеление, задержка процесса окукливания. У гусениц *Choristoneura fumiferana* при заражении их



Рис. 22. Гусеница *Pectinophora gossypiella*, пораженная вирусом цитоплазматического полиэдроза [426]

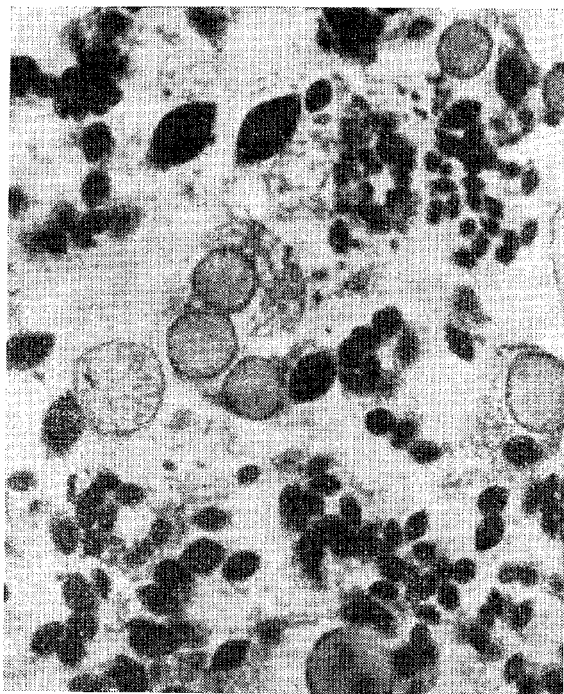


Рис. 23. Ромбовидные кристаллы вируса оспы майского хруща (*Melolontha melolontha*). $\times 750$ [42a]

вирусом оспы, изолированным из *Choristoneura biennis*, такие симптомы появлялись на 6—20-й день, а гибель гусениц наблюдалась между 12—72-м днем.

Вирус оспы насекомых был открыт и описан впервые Ваго [71] у личинок майского хруща (*Melolontha melolontha*). Вейзер назвал этот вирус «*Vagovirus* gen. n.» Вирус развивается только в жировом теле насекомых. Инфицированные клетки насекомых имеют нормальные ядра, но капельки жира разрушаются и замещаются кристаллами. Кристаллы ромбовидной формы растут от 0,7—1 мк в диаметре до 13 x 6 мк, принимая овальную форму (рис. 23). Они продолжают увеличиваться в размерах до 12 x 19—20 мк.

В центре таких кристаллов расположена группа из 60—100 игловидных частиц, хорошо преломляющих свет. Эти игловидные частицы не удалось наблюдать на ультратонких срезах под электронным микроскопом.

Овальные кристаллы являются конечной фазой развития вируса оспы. Обычно в клетке образуется один крупный овальный кристалл, содержащий много вирусных частиц.

Мелкие кристаллы окрашиваются обычными анилиновыми красками. По мере роста кристаллов растет и их устойчивость к окрашиванию. Крупные овальные кристаллы не прокрашиваются даже после обработки слабой щелочью [74].

У комара *Camptochironomus tentans* Вейзер [77] описал вирус, близкий по своим свойствам к вирусам группы оспы.

В жировом теле насекомых развивались включения типичной веретеновидной формы. В отличие от вируса оспы *Melolontha*, где ядро не принимает никакого видимого участия в образовании вируса, в случае оспы *C. tentans* ядра клеток инфицированных насекомых отличаются по своей структуре от ядер здоровых личинок, и включения образуются в тесном соприкосновении с ядром. Кроме того, наблюдается увеличение частоты деления клеток. У *C. tentans* в противоположность вирусу оспы майского хруща образуются включения, которые с самой ранней стадии содержат внутри вирусные частицы. Количество вирусных частиц намного больше, чем у вируса оспы *Melolontha*. Обычно в инфицированных клетках формируется от одного до шести включений в непосредственной близости к ядру. В каждом кристалле содержится несколько сотен вирионов. Этот вирус Вейзер считает более близким по своим свойствам к вирусам оспы позвоночных, чем вирус *Melolontha*.

У *Oreopterha brumata*, как и у других насекомых, инфекция развивается в жировом теле. На гистологических срезах, окрашенных гематоксилином Гайденгайна, первым признаком инфекции является растворение капелек жира и появление множества мелких сферических образований около 0,5 мк в диаметре. Эти частицы собираются в плотные массы, которые делятся затем на пучки мелких игл 1 x 0,5 мк в диаметре. Они растут, превращаясь в веретеновидные включения размером 5—6 x 12—15 мк. По своей структуре эти веретеновидные включения гомогенны и даже после обработки щелочью не обнаруживают в своем составе каких-либо структур. Конечной стадией развития вируса являются крупные овальные включения размером 3—4 x 5—6 мк и более. Овальные включения не окрашиваются гистологическими красками без предварительной обработки щелочью, подобно зрелым полиэдрам и гранулам из рода *Baculovirus*. На поверхности овальных включений имеются выпуклости.

При растворении в щелочи внутри овальных включений можно видеть много мелких частиц. В одном овоиде содержится более 20 частиц. При появлении в клетках жирового тела овальных включений клеточные стенки инфицированных тканей обычно растворяются, автолизуются и ядра исчезают [75].

У *Euxoa auxliaris* через 13—17 дней после инфицирования гусениц вирусом оспы через корм их тело становится вялым, гусеницы теряют координацию и выглядят молочно-белыми благодаря накоплению включений в гемолимфе. Обычно на 16—18-й день наступает гибель гусениц. При инфицировании гусениц

сублетальными дозами вируса в куколках накапливается огромное количество овальных включений и процент выхода имаго значительно снижается [68].

Моррис [55] изучил гистохимические изменения в личинках майского хруща (*M. melolontha*), пораженных вирусом оспы.

Гусеницы фиксировались в жидкости Карнуа при 6° через 15, 23 и 195 дней после инфицирования насекомых инъекцией в гемоцель филтраты жирового тела больных оспой личинок. Готовились парафиновые срезы, которые окрашивались специфическими красителями на ДНК, РНК, белок и гликоген.

Оказалось, что в процессе инфекции происходит увеличение среднего диаметра ядра без какого-либо значительного увеличения в содержании ДНК. Напротив, количество цитоплазматической РНК непрерывно увеличивается вплоть до 73-го дня, а затем слегка уменьшается. Содержание ядерных белков увеличивается в течение 23 дней после инфицирования, а цитоплазматических белков возрастает в течение всего периода болезни. Через 23 дня после инфицирования наблюдается резкое падение количества гликогена.

У личинок наблюдались три различных морфологических типа включений, которые хорошо окрашивались желтым нафтолом S, что указывало на их белковую природу.

Один тип веретеновидных включений не содержал внутри никаких структур. Два других были округлой формы, но один из них был пиронинофильным и содержал внутри вирусные частицы, а другой не воспринимал пиронин и был лишен вирусных частиц.

Моррис не объясняет разницы в пиронинофилии зрелых и незрелых включений. Мы же предполагаем, что эти зрелые включения подобно зрелым включениям *Vasculovirus*, содержат в белковом матриксе РНК, чем и объясняется их окраска пиронином.

Будущие исследования вирусов оспы покажут, насколько правильно наше предположение.

Таким образом, вирусы оспы насекомых вызывают у них вполне характерные симптомы заболевания, сводящиеся к размягчению и побелению тела и к образованию в цитоплазме жирового тела сначала мелких веретеновидных или ромбовидных включений, которые растут и превращаются в крупные овальные включения, содержащие вирусные частицы.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГУСЕНИЦАХ, ПОРАЖЕННЫХ РАДУЖНЫМИ ВИРУСАМИ (IRIDOVIRUS)

Самым характерным внешним симптомом поражения насекомых радужными вирусами является радужное свечение тела насекомого от голубых до темно-фиолетовых тонов. Такое свечение, как уже указывалось, объясняется исключительно правильной кристаллической упаковкой вирусных частиц. Типичным

представителем этого рода вирусов является радужный вирус болотной долгоножки (*Tipula paludosa*) [67]. Вирус локализуется, как правило, в жировом теле насекомого, однако в тяжелых случаях он может размножаться в коже, мышцах, зачатках крыльев, ногах и голове насекомого.

Внешние признаки больных насекомых в значительной мере зависят от характера поражаемых тканей. В том случае, если не поражена гиподерма, насекомое внешне мало изменяется и разложения и размягчения тканей не наблюдается. У пораженных насекомых в отличие от здоровых особей появляется сине-голубое свечение гипертрофированных долей жирового тела. К концу заболевания свечение распространяется по всему телу и делается менее интенсивным. Тело насекомых переполнено белой густой жидкостью, содержащей разрушенное жировое тело с высокой концентрацией вирусных частиц, обладающих радужным свечением.

У рисовой стеблевой огневки (*Chilo suppressalis*) при заражении радужным вирусом через корм заболевает 16% личинок. Через 12 дней наблюдаются первые признаки инфекции. Сначала тело личинок приобретает молочно-белую окраску. По мере развития болезни сильно инфицированные личинки становятся голубоватыми. Цитоплазма жирового тела таких личинок переполнена вирионами, типичными для этой группы вирусов. При инъекции вируса в гемоцель заболевает 100% личинок.

У *Simulium ornatum* личинки последних возрастов, тяжело инфицированные радужным вирусом, светились от голубого до фиолетовых тонов [76]. Пораженные личинки отличались от здоровых того же возраста меньшими размерами. На гистологических срезах, окрашенных железным гематоксилином, в цитоплазме клеток жирового тела можно наблюдать хорошо прокрашенные в черный цвет овальные скопления (от 1—2 до 10—15 мк), которые при просмотривании в электронном микроскопе оказываются состоящими из плотных упаковок вирусных частиц.

В культуре клеток яичников *Antheraea eucalypti* при инфицировании их радужным вирусом *Sericesthis* с помощью иммунофлуоресцентного метода удается выявить локализацию вирусного антигена. Уже через 2—3 дня после инфицирования в отдельных участках цитоплазмы выявляются очаги вирусного антигена. По мере развития инфекции специфическое свечение распространяется на всю область цитоплазмы [27].

Дикие личинки комаров *Aedes detritus* III возраста в зависимости от способа их инфицирования развивали характерные симптомы инфекции в разные сроки после заражения. При инъекциях вируса радужное свечение появлялось через 10 дней, а при инфицировании *per os* (выдерживанием личинок в вирусной суспензии в течение 24 час.) — только через 20 дней. Смерть личинок наступала через две недели после появления первона-

чальных симптомов заболевания. При инъекциях вируса погибло 34,2% личинок, при скармливании вируса — только 8% [38].

У комаров *Aedes taeniorhynchus*, инфицированных штаммом радужного вируса, дающего желтое или желто-зеленое свечение («regular, MIV»), радужность развивается в грудной части тела комара, которое светлеет в окраске, затем быстро развивается желтая окраска, и перед гибелью личинки все тело выглядит бриллиантово-желтым или желто-зеленым. Больные личинки становятся вялыми и остаются некоторое время взвешенными на поверхности [35].

Известно, что радужные вирусы комаров при инфицировании их личинок через корм вызывают небольшую гибель насекомых (5—20%) [47].

Судьба радужного вируса комаров *Aedes taeniorhynchus* была подробно изучена на ультратонких срезах [69].

Кишечник насекомых состоит из трех отделов — переднего, среднего и заднего. Эпителий переднего и заднего отделов кишечника защищен толстой кутикулой, а эпителий среднего отдела выстлан менее плотной перитрофической мембраной, через которую легко проникают пищеварительные ферменты и продукты их переваривания. Таким образом, средний отдел кишечника служит местом начала вирусной инфекции при заражении через корм.

При инфицировании комаров *A. taeniorhynchus* радужным вирусом во всех без исключения тридцати просмотренных ультратонких срезах личинок в электронном микроскопе была обнаружена очень быстрая деградация вирусных частиц в передней части просвета средней кишки. Оказалось, что в структурном отношении перитрофическая мембрана кишечника комаров отличается от перитрофической мембраны других насекомых отсутствием на ее поверхности пор. Таким образом, вирионы радужных вирусов комаров не способны проникнуть через перитрофическую мембрану средней кишки комаров.

Тщательное исследование кишечного тракта *Aedes taeniorhynchus* другими авторами [35], через 30, 120 и 240 мин. после их инфицирования, также не обнаружило присутствия вирионов. Вирус был найден лишь в ткани пищевода, примыкающей к кишечнику.

Все эти исследования объясняют небольшой процент заражения комаров при инокуляции вируса через корм. Можно предположить, что вирус проникает в гемоцель из кишечника во время линьки насекомого, когда кутикула размягчается и ослабляется.

Нам представляется возможным также проникновение свободной инфекционной нуклеиновой кислоты (в данном случае ДНК) вирионов через перитрофическую мембрану средней кишки комаров, так как под влиянием щелочной среды в среднем отделе кишечника может происходить растворение оболочки вирионов и освобождение нуклеиновой кислоты. Возможно также, что в кишечнике комаров могут действовать одновременно оба про-

цесса: проникновение вирионов через ослабленную кутикулу и проникновение свободной инфекционной нуклеиновой кислоты.

Таким образом, радужные вирусы насекомых обладают уникальным симптомом инфекции, отсутствующим у других групп насекомых, свойством давать радужное свечение в больных насекомых. Главным и первичным местом репликации радужных вирусов является жировая ткань насекомых. Поражение же других тканей связано, по-видимому, с тяжестью инфицирования и распространением вируса в этих случаях на другие ткани.

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ДРУГИХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ НАСЕКОМЫХ

При заражении личинок большой вошинной моли (*Galleria mellonella*) вирусом дензонуклеоза через 4—6 дней происходит разрушение жировой ткани насекомых и инфицирование трахей, гиподермы, гемоцитов и клеток шелковичных желез. Вирус вызывает быструю и сильную гипертрофию ядер, которые становятся эозинофильными. В инфицированных ядрах образуется большое плотное тело (см. рис. 9). Несмотря на разрушение тканей больных насекомых, плотные образования в ядрах продолжают оставаться неизменными. Они представляют собой скопление вирусных частиц. Вирус весьма вирулентен и специфичен. Подробно гистопатология дензонуклеоза описана Амардже и др. [23].

Курстак [44] изучил патогенез вируса дензонуклеоза *Galleria* с помощью акридин-оранжевой флуоресцентной микроскопии, автордиографии, иммунофлуоресценции, пероксидазным методом и электронной микроскопией. Все эти методы показали, что уже через несколько часов после инфицирования (2—6 час.) в ядрах значительно увеличивается синтез ДНК. Присутствие вирусного антигена в ядре наблюдается через 8—13 час. при 32°. Появившиеся вирусные частицы захватывают всю область ядра, а затем переходят в цитоплазму.

Метаболизм нуклеиновых кислот в гусеницах пчелиной моли, инфицированных вирусами дензонуклеоза и радужным вирусом *Tirula*, изучался методом автордиографии [57, 59]. Гусеницам наряду с вирусами вводились радиоактивные метки — тритированный тимидин и тритированный уридин. Критерием включения ЗН-тимидина служила плотность зерен серебра в области ядер жирового тела гусениц, что свидетельствовало о синтезе ДНК. Интенсивность синтеза РНК определялась подсчетом зерен серебра вокруг клеточных ядер гусениц, инфицированных вирусом дензонуклеоза, и в ядрах и цитоплазме при инфицировании радужным вирусом.

При инфицировании гусениц пчелиной моли вирусом дензонуклеоза уже на 5-й день наблюдалась значительная гипертрофия ядер. Их средний диаметр составлял 15 мк против 9 мк. в

контроле. На 7-й день после инфицирования диаметр ядер достигал 24 мк. У инфицированных гусениц все (100%) ядра включали тимидин, в то время как в контрольных гусеницах процент ядер с радиоактивной меткой составлял только 12. На 7-й день после инфицирования вокруг ядер наблюдалась высокая плотность зерен серебра. Радиоактивный уридин активно включался в ядрышки при инфицировании гусениц пчелиной моли вирусом дензонуклеоза.

При инфицировании вируса дензонуклеоза комара *Aedes aegypti* здоровым личинкам I возраста гибель их наступала в IV возрасте и составляла 36,6—43%. Оптимальной температурой для развития инфекции являлись 22—24°. Признаками инфекции были деформация личинок, потеря подвижности, отсутствие реакции на механическое раздражение, побеление тела личинок в области груди и последних брюшных сегментов. На гистологических срезах наибольшие изменения наблюдались в ядрах жирового тела на 7—8-й день после инфицирования, хотя признаки инфекции обнаруживались также в гиподерме, мальпигиевых сосудах и стенках кишечника [3а].

Как известно, радужный вирус долгоножки развивается в цитоплазме. При этом ядра клеток не гипертрофируются, но размеры клеток несколько увеличиваются. На 8-й день после инфицирования наблюдается 100%-ное включение 3Н-тимидина в цитоплазму с высокой плотностью зерен серебра. Но особенно высоким было включение в цитоплазму 3Н-уридина. На 100 клеток среза число зерен серебра у инфицированных гусениц составляло в среднем 568 против 15 зерен в контроле.

Таким образом, несмотря на различную локализацию двух описанных здесь ДНК вирусов (одного в ядре, другого в цитоплазме), происходит усиленный обмен как ДНК, так и РНК.

Вирус острого паралича пчел (*Apis mellifera*) вызывает симптомы заболевания, сходные с вирусом хронического паралича пчел, хотя эти вирусы различаются морфологически и серологически.

Заболевшие пчелы становятся вначале возбужденными, позднее перестают реагировать на внешние раздражения, с трудом поднимаются в воздух, у них наблюдается дрожание конечностей. Больные и погибшие пчелы теряют волосной покров, становятся темного, блестяще-маслянистого цвета. Заболевшие пчелы быстро гибнут.

На ультратонких срезах пчел, инфицированных вирусом острого паралича, Фургала и Ли [33] установили локализацию вируса в жировом теле насекомого. Вирус отсутствовал в средней кишке, грудных мускулах и брюшных ганглиях. Частицы вируса с $d=28$ нм всегда присутствовали в цитоплазме клеток жирового тела или свободно, или внутри ограничивающей их мембраны, где они располагались беспорядочно или были упакованы в кристаллическую решетку.

Вирус острого паралича локализуется в жировом теле, чем отличается от вируса хронического паралича пчел, который сосредоточен в нервной ткани [26].

Коломиец [8а] выделила вирус паралича пчел на 102 пасаках Украинской ССР. Вирус имел размеры 30—60 нм, был устойчив к низким температурам, к хлороформу и эфиру, но инактивировался при 60° в течение 30—60 мин.

Автором разработана методика получения специфических гипериммунных кроличьих сывороток, которая позволяет надежно и быстро диагностировать вирус паралича пчел с помощью реакций гемагглютинации и задержки гемагглютинации.

Вирус мешотчатого расплода пчел (sacbrood virus) по морфологии и другим свойствам очень близок к вирусу острого паралича пчел, но отличается от него серологически. Вирус поражает обычно пяти-шестидневных личинок, а у взрослых пчел может присутствовать в латентной форме.

Вирус поражает личинок рабочих пчел, личинок трутней и маток. Гибель личинок наблюдается главным образом в запечатанном расплоде в течение 3—5 дней. Соты с пораженным вирусом расплодом имеют пестрый вид: крышечки ячеек или удалены, или продырявлены [12]. Трупы только что погибших личинок выглядят, как мешок, наполненный коричневой жидкостью.

На последних стадиях болезни трупы личинок высыхают, становятся ломкими. Чаще болезнь поражает пчелиные семьи с апреля по август, но наибольшего расцвета достигает в июне [11].

Единственным внешним признаком заболевания плодовых мушек дрозофил (*Drosophila melanogaster*) вирусом сигма (δ) является их чувствительность к CO_2 . При определенных концентрациях CO_2 , вызывающих у здоровых мух лишь обратимое состояние наркоза, инфицированные мухи быстро погибают от паралича.

Вирус δ может быть передан здоровым мухам инокуляцией, и они приобретают чувствительность к CO_2 . Самки передают эту чувствительность своему потомству. Если вирус попадает в гаметы, то мухи-потомки становятся стабилизированно чувствительными, сохраняют вирус в течение всей жизни и передают его потомству. В случае, если вирус присутствует только в соматических клетках (нестабилизированный вирус), потомство чувствительных к CO_2 мух значительно варьирует. Жизнеспособность яиц, полученных от зараженных мух, уменьшается. Более детальное описание взаимоотношений вируса и хозяина (мухи дрозофилы) можно найти в обзорах Сикова [64], Лехериты [46], Лехериты и Плюс [45].

Лонгуорс и Хэррэн [50] изучили патологические изменения, происходящие при инфицировании сатурнид *Nealorhoga* сес-

goria и гибрида *Philosamia cynthia* × *P. ricini* ДНК-содержащим вирусом, не образующим включений.

У гусениц *P. cynthia* × *P. ricini* замедляется рост и тело приобретает желтовато-белую окраску. Наружный покров приобретает восковой вид и выглядит прозрачным. Гусеницы перестают питаться и через 2—3 дня после этого погибают.

Инфицированные гусеницы старших возрастов выглядят нормальными, затем резко прекращается питание гусениц и через 1—2 дня у них появляется рвота прозрачной жидкостью, которая сопровождается поносом или выделением жидких коричневых фекасов. Мягкие мертвые гусеницы часто падают на дно садка, теряют свою окраску и быстро разлагаются.

У пораженных гусениц младших и старших возрастов кишечник выглядит студенистым, хрупким, прозрачным и наполнен жидкостью. У молодых гусениц наблюдается редукция и прозрачность жирового тела.

У *Nealophora sescoria* при инфицировании этим же вирусом симптомы заболевания несколько отличаются: мертвые гусеницы выглядят вялыми, но сохраняют обычную окраску. Рвота наблюдается не всегда, но гусеницы всегда извергают содержимое и их фекасы часто окрашены в красновато-коричневый цвет. За 2—3 дня перед смертью гусеницы прекращают питаться. Передний и средний отделы кишечника большинства трупов прозрачные, хрупкие и наполнены жидкостью. Иногда они полностью разрушаются. Средняя кишка часто окрашена в темно-коричнево-зеленый цвет. Жировое тело всегда редуцировано и прозрачно. Вирионы локализуются только в эпителии средней кишки гусениц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гершензон С. М. 1961. Журн. общей биол., 22, № 1, 32.
2. Гершензон С. М., Кок И. П., Витас К. И., Добровольская Г. Н., Скуратовская И. Н. 1963. Вопросы вирусол., № 3, 385.
3. Гладышева Л. Е., Мамедниязов О. Н. 1968. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
- 3а. Гончар Н. М., Лебединец Н. Н., Буцацкий Л. П., Кузнецова М. А., Зеленко А. П. 1974. Медицинская паразитология и паразитарные болезни, вып. 3, 341.
4. Гулий В. В. 1967. Вирусные инфекции пилильщиков массовых вредителей лесов в среднем Приобье. Автореф. канд. дисс. Новосибирск.
5. Гулий В. В. 1971. Биол. науки, № 10, 12.
6. Гулий В. В. 1972. Экология, № 4, 32.
7. Дикасова Е. Т. 1969. Гранулез озимой совки и его применение для борьбы с этим вредителем. Ташкент, «ФАН».
8. Жимерикин В. Н., Гулий В. В. 1972. Изв. Сиб. отд. АН СССР, вып. 1, 68.
- 8а. Коломиец А. Ю. 1974. Этиология, клинические признаки и методы диагностики вирусного паралича пчел (по материалам Украинской ССР). Автореф. канд. дисс. М.
9. Ованесян Т. Т. 1947. Труды Тбилисс. н.-и. ин-та шелководства, 1, 177.
10. Ованесян Т. Т., Ноникашвили Л. В. 1968. В сб. «Материалы научн. совещ. по защите шелкопряда и шелковицы от болезней и вредителей». Тбилиси.

11. Полтев В. И. 1964. Болезни пчел. М., «Колос».
12. Полтев В. И., Нешатаева Е. В. 1970. Болезни и вредители пчел с основами микробиологии. М., «Колос».
13. Лирс Э. 1956. Гистохимия теоретическая и прикладная. Пер. с англ. М., ИЛ.
14. Семенова З. А. Цитологические изменения при желтухе тутового шелкопряда. Автореф. канд. дисс. М.
15. Сиротина М. И. 1951. Болезни дубового шелкопряда и меры борьбы с ними. Киев.
16. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф. 1958. Изв. АН СССР, сер. биол., № 3, 352.
17. Тарасевич Л. М. 1961. Вопросы вирусол., № 6, 362.
18. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф., Шведчикова Н. Г. 1966. В сб. «О природе вирусов». М., «Наука».
19. Тарасевич Л. М. 1971. Успехи микробиол., 7, 240.
20. Уланова Е. Ф. 1968. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
21. Уланова Е. Ф., Рындовская Ю. Л. 1972. Биол. науки, № 7, 13.
22. Aizawa K. 1967. The Journ. Japan, 36, N 4, 327.
23. Amargier A., Vago C., Meynadier G. 1965. Arch. Ges. Virusforsch., 15, 5, 659.
24. Armstrong J. A., Niven J. S. 1957. Nature, 180, 1335.
25. Balch R. E., Bird F. T. 1944. Sci. Agr., 25, 65.
26. Bailey L., Milne R. G. 1969. J. Gen. Virol., 4, 1, 9.
27. Bellet A. J. D., Mercer E. H. 1964. Virology, 24, 645.
28. Benz G. 1960. J. Insect Pathol., 2, 259.
29. Benz G. 1963. J. Insect Pathol., 5, 215.
30. Bird F. 1949. Nature, 163, 777.
31. Cox M. E., Larson A. D., Amborski R. L. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 3, 411.
32. Derevici A., Portocală R., Vasilescu P. 1950. Analele Acad. Rep. Pop. Române, 11, 23, 150.
33. Furgala B., Lee P. E. 1966. Virology, 29, 2, 346.
34. Grafia A., Brachet G., Jeener R. 1945. Compt. Rend. Seanc. Soc. Biol., N 1—2, 72.
35. Hall D. W., Anthony S. W. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 1, 61.
36. Hamm J. J., Paschke J. D. 1963. J. Insect Pathol., 5, 187.
37. Harker J. E. 1963. In «Insect Pathology». An Advan. Treat. Ed. Steinhaus E. A., 1, 191, Acad. Press. N.-Y.—Ld.
38. Hasan S., Vago C., Kahl G. 1971. Bull. W. H. O. 45, 268.
39. Heimpel A. M., Adams J. R. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 3, 340.
40. Henry J. E., Jutila J. W. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 3, 417.
41. Hüger A., Krieg A. 1961. J. Insect Pathol., 3, 183.
42. Hüger A. 1963. In «Insect Pathology». An Advan. Treat. Ed. Steinhaus E. A., 1, 538. Acad. Press. N.-Y.—Ld.
- 42а. Hurpin B., Vago C. 1963. Rev. Pathol. Veg. d'Entomol. Agricol. France, 62.
- 42b. Ignoffo C. M. 1968. Current Topics in Microbiol. a. Immunol., 42, 129.
43. Kellen W. R., Clark T. B., Lindegren J. E. 1963. J. Insect Pathol., 5, 1, 98.
44. Kurstak E. 1972. Advanc. in Virus Res., 17, 207. Acad. Press., N.-Y.—Ld.
45. L'Heritier Ph., Plus N. 1964. Biol. Organiz. Acad. Press., N.-Y.
46. L'Heritier P. 1971. Ann. Parasitol. hum. comp., 46, 3 bis, 173.
47. Linley J. R., Nielsen H. T. 1968. J. Invert. Pathol., 12, 17.
48. Lipa J. J. 1970. Acta Microbiol. Polon., ser. B., 2, 4, 237.
49. Lipa J., Ziemnicka J. 1971. Acta Microbiol. Polon., ser. B., 3, 3, 155.
50. Longworth J. F., Harrap K. A. 1968. J. Invert. Pathol., 10, 139.
51. Maleki-Milani H. 1970. Entomophaga, 15, 3, 315.
52. Morris O. N. 1962. J. Insect Pathol., 4, 4, 446.
53. Morris O. N. 1963. J. Microbiol., 9, 6, 899.
54. Morris O. N. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 1, 35.
55. Morris O. N. 1966. Canad. J. Microbiol., 12, 5, 965.
56. Morris O. N. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 2, 259.
57. Morris O. N. 1970. J. Invert. Pathol., 16, 2, 180.
58. Morris O. N. 1970. J. Invert. Pathol., 16, 2, 173.

59. Morris O. N. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 2, 191.
60. Neilson M. M. 1964. J. Insect Pathol., 6, 1, 41.
61. Neilson M. M. 1965. J. Invert. Pathol., 7, 3, 306.
62. Neilson M. M., Elgee D. E. 1968. J. Invert. Pathol., 10, 70.
63. Nuorteva M. 1966. J. Anzeiger Svhädlingskunde., 39, 4.
64. Seecof R. 1968. In «Current Topics in Microbiol. a. Immunol.», 42, Ed. Ma-ramorosch., p. 59, N.-Y.
65. Smirnof W. A. 1964. J. Insect Pathol., 6, 384.
66. Smirnof W. A. 1966. Canad. J. Microbiol., 12, 1076.
67. Smith K. 1967. Insect Virology. Acad. Press. N.-Y.—Ld.
68. Sutter G. R. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 3, 375.
69. Stoltz D. B., Summers M. D. 1971. J. Virol., 8, 6, 900.
70. Tanada Y., Leutenegger R. 1970. J. Ultrastruct. Res., 30, 589.
71. Vago C. 1963. J. Insect Pathol., 5, 2, 275.
72. Veber Y. 1957. Nature, 179, 1304.
73. Watanabe H., Kobayashi M. 1970. J. Invert. Pathol., 16, 71.
74. Weiser Y. 1965. J. Invert. Pathol., 7, 82.
75. Weiser Y., Vago C. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 3, 314.
76. Weiser Y. 1968. J. Invert. Pathol., 12, 36.
77. Weiser Y. 1969. Acta Virologica, 13, 549.
78. Yamafuji K., Shimamura M., Yashihara F. 1954. Enzymol., 16, 6, 337.

СТРУКТУРА И МОРФОГЕНЕЗ ВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ



СТРУКТУРА И МОРФОГЕНЕЗ BACULOVIRUS, ВЫЗЫВАЮЩИХ ПОЛИЭДРОЗЫ И ГРАНУЛЕЗЫ НАСЕКОМЫХ

Первыми вирусами, строение которых изучалось под электронным микроскопом, были вирусы полиэдрозов и гранулезов насекомых из отряда чешуекрылых (Lepidoptera). Бергольд [18] предложил способ щелочной обработки полиэдров и гранул, позволяющий растворять белковый матрикс включений и освобождать из них вирусные частицы (вирионы). Этот прием освобождения вирионов из включений прочно вошел в практику препаративных работ с вирусами насекомых. В настоящее время предложен и другой способ освобождения вирионов из белкового матрикса полиэдров и гранул с помощью изопропанола и гуанидина [65].

Освобожденные с помощью щелочной «смеси» Бергольда вирионы отделяются от белка и нерастворившихся включений центрифугированием и становятся доступными для исследования в электронном микроскопе.

Было показано, что вирионы, входящие в состав полиэдров и гранул насекомых, представляют собой частицы палочковидной или бациллярной формы длиной 200—300 нм.

В дальнейшем стали исследовать ультратонкие срезы очищенных осадков полиэдров и гранул без освобождения из них вирусных частиц. Оказалось, что вирионы, погруженные в полиэдры или гранулы, окружены двумя мембранами — внутренней и внешней. Внутреннюю мембрану Бергольд [1, 20] назвал «интимной», а внешнюю — «мембраной развития» (рис. 24, а, б). Мембрана развития составляет в толщину 75 Å, а пространство между мембраной развития и интимной мембраной измеряется величиной около 40 Å. Между плотной сердцевинной вириона с $d=20$ Å имеется менее электронно-плотная зона около 60 Å шириной.

Метод негативного контрастирования фосфорно-вольфрамовой кислотой позволил наблюдать тонкую структуру вирионов. При обработке вирионов слабой щелочью или других воздействиях и при последующем негативном контрастировании можно

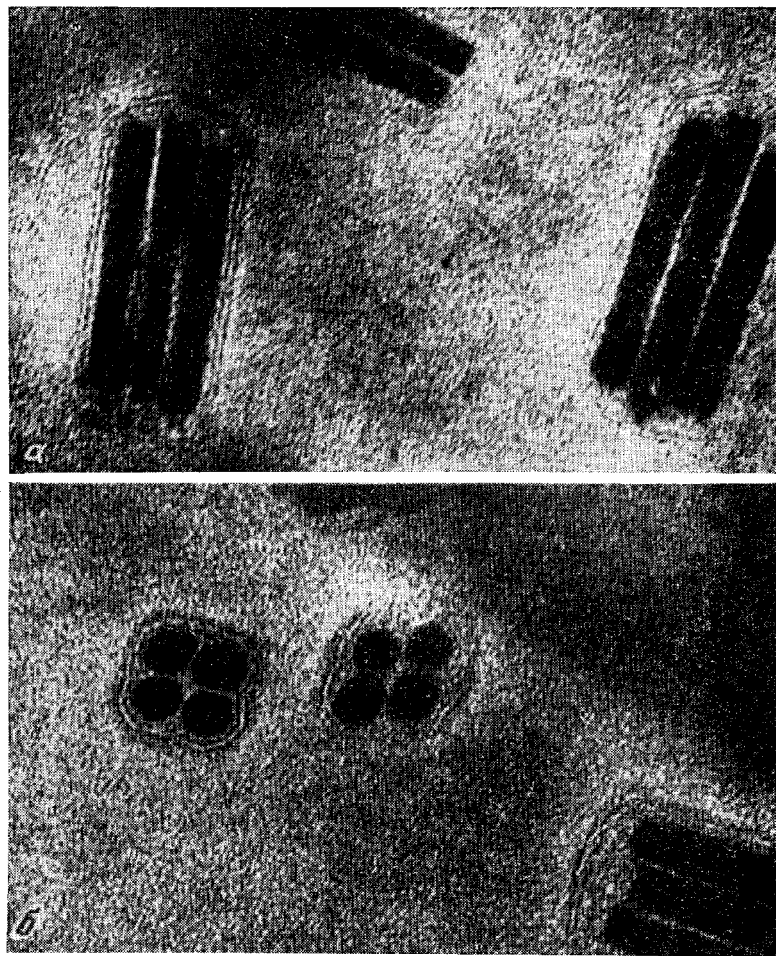


Рис. 24. Ультратонкий срез через ядерные полиэдры большой вошковой моли (*Galleria mellonella*)

a — продольный, *б* — поперечный, $\times 180\,000$ [81]

наблюдать прежде всего освобождение, как бы «отшелушивание», мембраны развития. Разрушение последней начинается посередине, и получаются как бы две сферические частицы, которые затем расходятся. Эти сферические частицы Бергольд принимал за стадию развития вирусов [74].

Хьюгс [47а] считает, что интимная мембрана вирусной частицы тождественна капсиду, т. е. внешнему белковому слою палочки, и поэтому в настоящее время нецелесообразно употреблять термин «интимная мембрана», с чем мы полностью согласны.

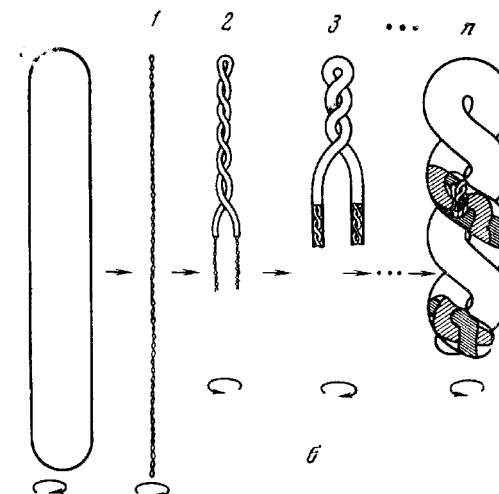
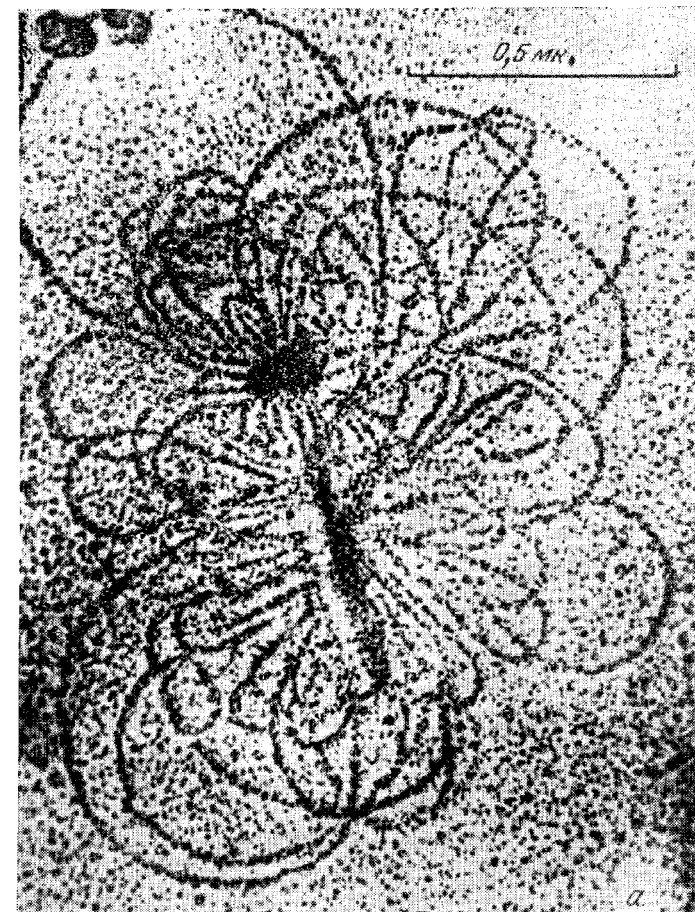


Рис. 25. Строение ДНК вируса гранулеза сибирского шелкопряда (*Dendrolimus sibiricus*) [11]

a — молекула ДНК вируса гранулеза; *б* — модель образования суперспирализованного тяжа ДНК путем ряда последовательных спирализаций циклической ДНК, 1, 2, 3 ... *n* — суперспирали ДНК 1, 2, 3, *n*-го порядков. Направление вращения указано внизу стрелкой [12]

При очень больших увеличениях электронного микроскопа внутри интимной мембраны можно видеть спиральную структуру. На основании наблюдений спиральной структуры внутри вирионов ядерных полиэдров Криг [51] предложил модель палочковидных вирусов насекомых, сходную с моделью вируса табачной мозаики.

Такая же модель со спиральной структурой вирионов была предложена для ядерного полиэдроза тутового шелкопряда (*Bombyx mori*) Козловым и Алексеенко (цит. по [68]).

При изучении тонкой структуры вирионов при гранулезе сибирского шелкопряда (*Dendrolimus sibiricus*) и озимой совки (*Agrotis segetum*) из вирионов была изолирована высокомолекулярная ДНК [10—12] (рис. 25, а). Для вирионов гранулеза сибирского шелкопряда молекулярный вес ДНК составлял 80 млн. для вирионов озимой совки — 30 млн. дальтонов. Было показано также присутствие высокомолекулярной ДНК в вирионах, изолированных из полиэдров тутового шелкопряда и гранул капустной метелки [6, 10, 86, 109].

Расчеты показали, что ДНК с таким высоким молекулярным весом не может уместиться в размер модели, предложенной Криг, Козловым и Алексеенко. Размещению такой модели может соответствовать лишь ДНК с небольшим молекулярным весом, составляющим несколько миллионов дальтонов, и размером спирали в несколько микрон.

При воздействии на гранулы сибирского шелкопряда и озимой совки высокой температурой (100—110° — «термальный шок»), или высокой концентрацией ФВК (10%), или слабым щелочным раствором без разрушения мембраны развития можно наблюдать выход толстых спиральных нитей ДНК из вирионов размером до 8,5 мк и их последовательную деспирализацию на более тонкие нити [10, 68].

Подобные нити, расплетающиеся еще на более тонкие, наблюдались также при изучении структуры вирионов вируса полиэдроза *Malacosoma alpicola* [16] и вирионов, изолированных из полиэдров *Aglais urticae* [40].

На основании экспериментальных данных и теоретических расчетов Шведчиковой и др. [10, 12, 68] была предложена новая модель упаковки ДНК палочковидных вирусов насекомых. Эта модель сводится к упаковке ДНК в вирионах в виде сложной спирали, которая состоит из последовательных более тонких суперспиралей первого, второго, третьего и т. д. порядков (рис. 25, б).

На ультратонких срезах полиэдров тутового шелкопряда (*Bombyx mori*), монашенки (*Lymantria monacha*), непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*) и гранул *Laphygma frugiperda*, листовертки, *Choristoneura fumiferana* были обнаружены палочковидные вирусные частицы длиной около 300 нм [23].

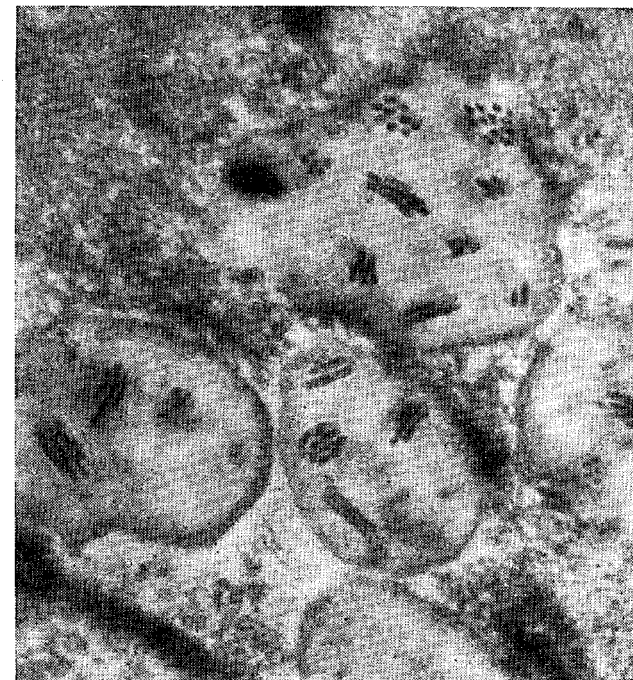


Рис. 26. Ультратонкий срез через гусеницу американской белой бабочки (*Nymphalidia cunea*), инфицированную ядерным полиэдрозом. Видны продольные и поперечные пучки вирионов внутри белкового матрикса полиэдров. $\times 34\,000$ [7]

Вирионы могут быть расположены в белковом матриксе полиэдров либо беспорядочно по одному, либо образуя пучки вирионов, одетые общей оболочкой.

У полиэдров монашенки и непарника вирионы заключены в пучки (до 19 вирионов в пучке), которые одеты общей мембраной, а у тутового шелкопряда вирионы почти всегда разбросаны в беспорядке по одному. В редких случаях можно наблюдать пучки вирионов и у тутового шелкопряда, содержащие до семи вирионов. Пучки вирионов наблюдались нами и на ультратонких срезах полиэдров американской белой бабочки (*Nymphalidia cunea*) [7] (рис. 26).

Полиэдры разных насекомых часто различаются по форме и размерам, но иногда вирусное заболевание характеризуется образованием однообразных по форме и размерам полиэдров, как, например, у тутового шелкопряда, полиэдры которого обычно представлены правильными шестигранниками (ромбододекаэдрами). У монашенки (*Lymantria monacha*) полиэдры в основном тетраэдрической формы.

При вирусных болезнях многих насекомых мы встречаем полиэдры неодинаковые по форме и размерам. Так, например, у американской белой бабочки (*Nyphantria cunea*) ядерные полиэдры представлены трех-, четырех-, пяти- и шестигранными формами разнообразных размеров [9]. Форма полиэдров, по мнению некоторых исследователей, контролируется вирусом, а не клеткой хозяина [2].

Необходимо заметить, что в световом микроскопе форма полиэдров более резко выражена и более определена. В то же время форма этих же полиэдров в электронном микроскопе настолько усложняется вследствие большего разрешения микроскопа, что их бывает очень трудно отнести к какой-либо определенной геометрической фигуре. Чаще всего такие полиэдры называют образованиями «неправильной формы» (см. рис. 26).

Размеры полиэдров в разных клетках одной гусеницы часто варьируют, так как инфицирование клеток происходит не одновременно. Внутри одного пораженного ядра, как правило, расположены полиэдры одного размера.

В том случае, если у одного вида насекомого встречаются полиэдры разной формы, можно предположить, что их происхож-

дение различно. Однако этот вопрос можно решить только после проведения перекрестных серологических реакций между ними.

Приведем размеры некоторых полиэдров и вирионов насекомых (табл. 5).

Из табл. 5 видно, что чаще размеры полиэдров составляют 1—3 мк, а вирионы, в них заключенные, — 200—300 нм в длину.

На исследованных нами ультратонких срезах гусениц американской белой бабочки (*N. cunea*) полиэдры размером 0,6—1,2 мк имеют неправильную форму, в которую заключены пучки вирионов (2—12) по 6—12 вирионов в пучке [7] (см. рис. 26).

Из погибших от ядерного полиэдроза гусениц *Pandemis lampyris* после очистки и осаждения были обнаружены полиэдры тетрагональной формы со средними размерами 0,9 мк (0,7—1,4 мк). Через 85—105 мин. после экспозиции полиэдров в 0,1 М Na_2CO_3 последние растворялись и из них освобождались вирусные частицы. Процесс растворения проводился на формваровых карбонизированных сеточках, которые просматривались в электронном микроскопе. Наблюдались различные стадии растворения полиэдров: пустые мембраны полиэдров, пучки вирионов (от 60—130 пучков в полиэдре) и распавшиеся на отдельные вирионы пучки (3—9 вирионов в пучке). Размер отдельной вирусной частицы составлял 145—200×30 нм [70, 71].

Хотя ядерный полиэдроз у видов *Agrotis* был известен давно, структура полиэдров никем не изучалась. Липа и др. [55] изучали структуру полиэдров озимой совки (*Agrotis segetum*) и воскликательной совки (*Agrotis exclamatoris*) на ультратонких срезах больных гусениц.

Большинство полиэдров озимой совки были шестигранными по форме, среди них встречались пяти- и четырехгранные. Диаметр полиэдров варьировал от 1,0 до 4,3 мк. Углы полиэдров были часто закруглены.

В белковый матрикс полиэдров озимой совки заключены пучки палочковидных вирионов (1—40 пучков на полиэдр). Пучки вирионов окружены мембраной. Чаще в пучке находится 4—8 вирионов. Средний размер вирионов 300×50 нм.

Полиэдры *Agrotis exclamatoris* по своей морфологии сходны с полиэдрами *A. segetum*. Их величина от 0,8 до 4 мк. Количество пучков варьирует, в пучке чаще встречается 6 вирионов. Размеры вирионов близки к вирионам *A. segetum* и составляют 319×50 нм.

Морфологическое сходство полиэдров и вирионов двух видов *Agrotis* приводит авторов к выводу, что у *A. segetum* и *A. exclamatoris* присутствует один вид вируса. Для окончательного вывода необходимы серологические тесты.

У других насекомых семейства *Noctuidae* — *Heliothis armigera* и *Heliothis zea* — полиэдры и вирионы имеют близкие размеры, хотя и отличаются немного от полиэдров и вирионов рода *Agrotis* (см. табл. 5). Различия в величине полиэдров и вирионов

Таблица 5
Размеры полиэдров и заключенных в них вирионов

Насекомое-хозяин	Размеры полиэдров, мк	Размеры вирионов, нм	Литературный источник
<i>Bombyx mori</i>	3—4	288×40	[19]
<i>Nyphantria cunea</i>	2—3	350×50	[60, 61]
<i>Pandemis lampyris</i>	0,7—1,4	145—200×30	[70]
<i>Agrotis segetum</i>	1,0—4,3	300×50	[55]
<i>Agrotis exclamatoris</i>	0,8—4	310×50	[55]
<i>Ceramica picta</i>	1,5—2,2	312,2×39,6	[13]
<i>Melanopus sanguinipes</i>	1,7—10,5	220—450	[43]
<i>Heliothis armigera</i>	0,7—1,2	320×50	[22]
<i>Culex tarsalis</i>	2—6	—	[49]
<i>Operophtera bruceata</i>	1,5—2,5	200×40	[69]
<i>Lambdina fiscellaria lugubrosa</i>	0,5—5	290×40	[66]
<i>Diprion hercyniae</i>	1 (среднее)	250×50	[24]
<i>Cladius viminalis</i>	0,5—2	50×60—10—20	[3]
<i>Plusia gamma</i>	2—5	290×50	[83]
<i>Prodenia litura</i>	1,2—3,2	320×100—130	[24]
<i>Pseudaletia unipuncta</i>	0,83—2,69	333,9—373,3× ×49,1—1,67	[88]
<i>Barathra brassicae</i>	0,8—2,7	—	[64]
	0,5—5	270×100	[8]
<i>Orgia pseudotsugata</i>	1,2—2	240—280×30—40	[62]

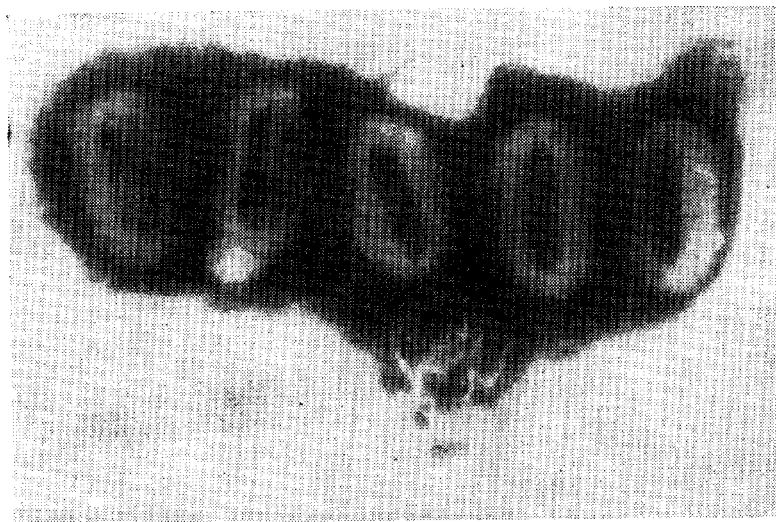


Рис. 27. Гранулы американской белой бабочки (*H. cunea*) в процессе растворения в смеси Бергольда. Оригинал

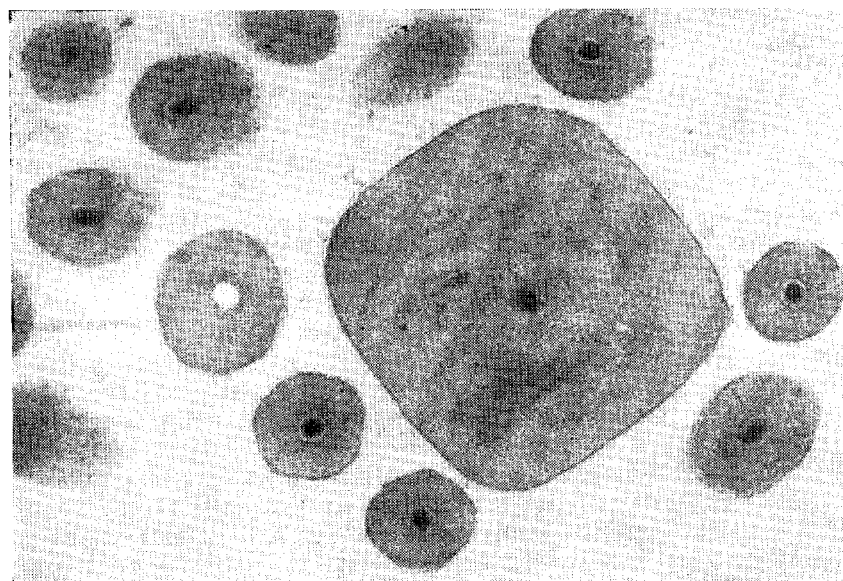


Рис. 28. Ультратонкий срез через гранулы американской белой бабочки (*H. cunea*). Видна аномальная гранула больших размеров. $\times 90\,000$. Фото Г. Х. Дрампиана

близких насекомых могут возникать от недостаточного количества измерений. Так, многие авторы не сообщают иногда, на основании какого числа полиэдров и вирионов сделаны выводы об их размерах.

Более важное отличие вирусов рода *Heliothis* от рода *Agrotis* состоит в том, что их вирионы располагаются в полиэдрах не пучками, а беспорядочно, по одному.

У *Lambdina fiscellaria fiscellaria* (Lepidoptera: Geometridae) и близких видов — *L. f. somniaria* и *L. f. lugubrosa* полиэдры обычно неправильной формы с закругленными углами. При заражении гусениц *L. f. fiscellaria* ядерными полиэдрами *L. f. somniaria* у них были обнаружены кубоидальные полиэдры, но с такими же размерами, как у обычных полиэдров.

У гусениц *L. f. fiscellaria*, инфицированных гомологичным вирусом, наблюдался штамм полиэдров, имеющий более крупные размеры (4—6 мк против 1,5—3 мк у обычных полиэдров) и тетраэдрическую форму [34].

Гранулы (капсулы), включения, образующиеся при гранулезе насекомых, отличаются от полиэдров прежде всего своими размерами и формой. Они значительно меньше полиэдров, и в среднем их размеры составляют $200\text{--}400 \times 50\text{--}70$ нм. В табл. 6

Таблица 6
Размеры гранул и заключенных в них вирионов

Насекомое-хозяин	Размеры гранул, нм	Размеры вирионов, нм	Литературный источник
<i>Choristoneura fumiferana</i>	350×150	270×40	[80]
<i>Ch. murinana</i>	360×230	$262 \times 50,6$	[19]
<i>Peridroma margaritosa</i>	400—600	340×40	[82]
<i>Agrotis segetum</i>	400—500	350×50	[55]
<i>Ag. exclamationis</i>			
<i>Ag. nigrum</i>			
<i>Hyphantria cunea</i>	400—600	270×54	[97]
	220—340	150×50	[7]
<i>Carpocapsa pomonella</i>	$393,9 \times 207,7$	$313,5 \times 50,7$	[89]
<i>Argyrotaenia velutinana</i>	315×160	250×50	[98]
<i>Harrisina brillians</i>	$167\text{--}975 \times$ $165\text{--}370$	245×65	[84]
<i>Diorycthia abietella</i>	450—650	460×70	[5]

приводятся размеры гранул у некоторых видов насекомых. Гранулы находятся на пределе видимости светового микроскопа и поэтому с достоверностью могут быть изучены только в электронном микроскопе.

По форме гранулы довольно однообразны — или яйцевидные, или овальные.

Внутри белкового матрикса гранул, как правило, заключена одна вирусная частица (в виде исключения — две), которая, как и у вирионов из полиэдров, одета двумя оболочками — внутренней и внешней. Тонкая структура гранул хорошо видна в электронном микроскопе в процессе растворения их в слабых щелочных растворах или на ультратонких срезах (рис. 27).

Аномальные гранулы описаны у южной амбарной огневки (*Plodia interpunctella*) [14]. В зараженных гранулезом насекомых присутствовало несколько типов гранул. Одни из них имели кубическую форму, другие были гигантских размеров и превосходили в несколько раз обычные гранулы. Встречались также гранулы, содержащие вместо одной от двух до девяти вирусных частиц, а также изогнутые гранулы. Такое аномальное строение гранул приписывается мутациям и каким-то необычным условиям кристаллизации гранул в клетке.

Необычные гранулы кубоидальной формы описаны у еловой хвоевертки (*Choristoneura fumiferana*) [80]. В нескольких пассажах через здоровых гусениц эта необычная форма сохранилась. Однако эти гранулы наблюдались только в фазовом контрасте в темном поле, что недостаточно для окончательного вывода о принадлежности этих кубоидальных образований к гранулам. Необходимы ультратонкие срезы, чтобы убедиться в наличии одного вириона внутри включений. На рис. 28 представлен ультратонкий срез гранул американской белой бабочки (*Hyalophora cunea*), где видна аномальная гранула необычно больших размеров.

МОРФОГЕНЕЗ VACULOVIRUS

Морфогенез вирусов представляет собой процесс образования зрелых вирусных частиц (вирионов) в пораженном вирусом насекомом или культуре ткани.

У *Baculovirus* (полиэдрозы и гранулезы), *Entomopoxvirus* (вирусы оспы) и *Reovirus* (вирусы цитоплазматических полиэдрозов) морфогенез вируса не заканчивается на стадии созревания вирионов и продолжается до погружения или заключения вирионов в белковые кристаллические включения (полиэдры, гранулы, сфероиды).

Проследить морфогенез вирусов насекомых в клетках насекомого-хозяина стало возможным благодаря интенсивному развитию методов электронной микроскопии. С помощью ультратонких срезов, с применением самых современных методов погружения и окраски срезов, в настоящее время достаточно хорошо изучено развитие основных групп вирусов насекомых в инфицированных клетках.

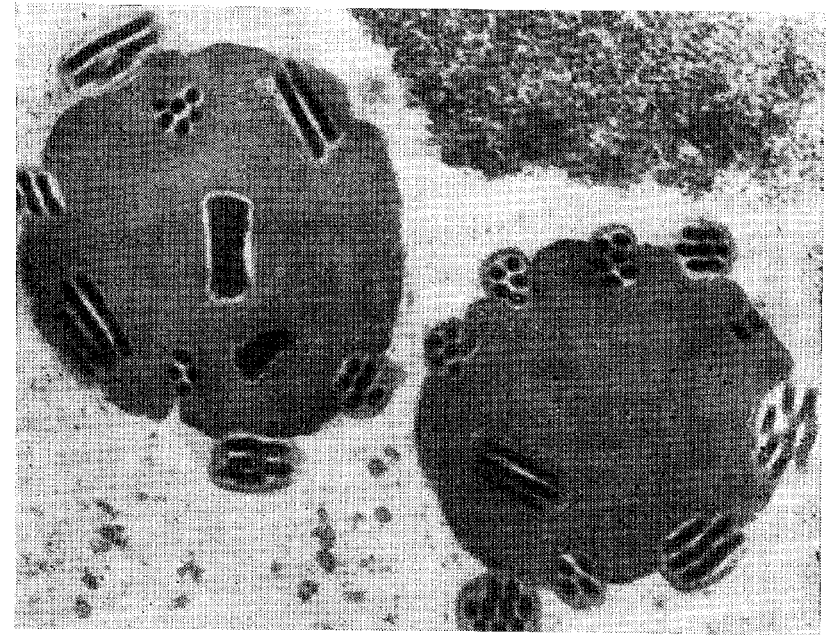


Рис. 29. Ультратонкий срез через ядерные полиэдры капустной металлоидки (*Trichoplusia ni*). Видны пучки вирионов, заключающиеся в белковый матрикс полиэдров. $\times 48\,150$ [42]

Характерной чертой морфогенеза вирусов насекомых является раздельное образование вирионов и одевающих их мембран.

Вирионы возникают в так называемой виrogenной строме, вироплазме, вирусных факториях, фокусах. Все эти названия являются синонимами и представляют собой электронно-плотный материал в ядре или цитоплазме, в котором появляются вирионы. На определенном расстоянии от вироплазмы образуются двойные мембраны, к которым мигрируют вирионы. Пока механизм этой миграции неизвестен. Не исключено, что вирионы не мигрируют к мембранам, а мембраны «притягивают» к себе вирионы.

Мембраны окружают прикрепившиеся к ним вирионы, «одевают» их, образуя зрелые вирусные частицы.

В случае полиэдрозов насекомых отдельные зрелые вирионы или пучки вирионов направляются к местам, где расположен белковый матрикс полиэдров, в который и заключаются вирионы (рис. 29, 30). В случае гранулезов насекомых в белковый матрикс направляется и погружается один вирион, редко — два вириона, образуя гранулу, или капсулу. Вирионы, не одетые мембраной, никогда не погружаются в белковый матрикс. Возможно, что внешняя мембрана *Baculovirus* имеет специфическое

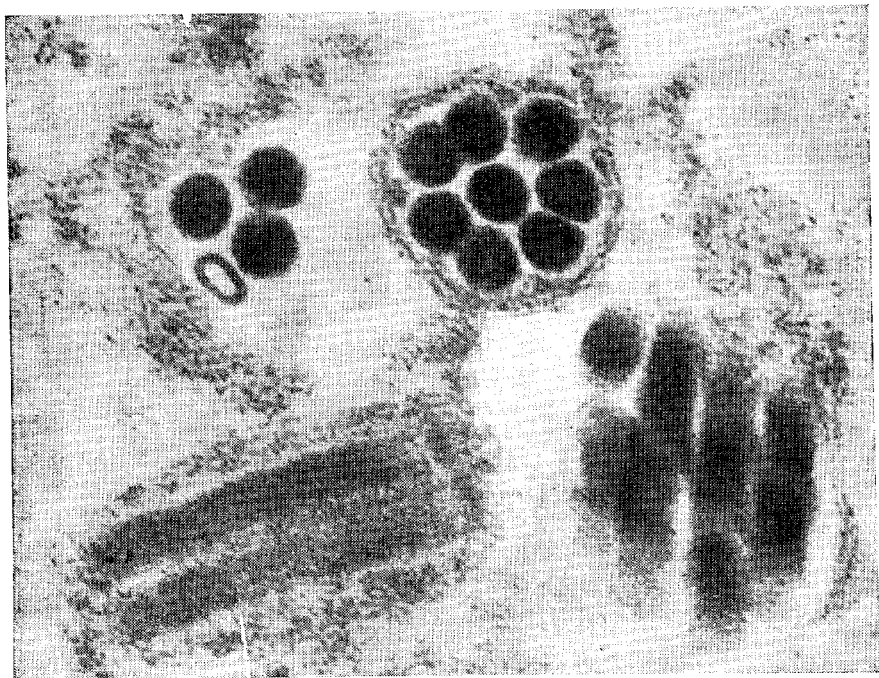


Рис. 30. Ультратонкий срез через гусеницу американской белой бабочки, инфицированную вирусом ядерного полиэдроза. Видно формирование пучков вирионов. $\times 270\,000$. Фото Г. Х. Драмбяна

средство как к вириону, так и к полиэдрическому белку. В случае вирусов насекомых, не образующих включений, последний этап погружения зрелых вирионов в белковый матрикс отсутствует и кристаллических включений не образуется. Интересное наблюдение сделано при развитии радужного вируса *Tirula rutilosa*. Зрелые вирионы вируса *Tirula* были окружены белковым матриксом, но они не заключались в него и формирования кристалла не происходило.

Вопрос о развитии вирусов насекомых дискутировался в 50-х годах, когда стало возможным проводить исследования в электронном микроскопе. Существовали две точки зрения на развитие вирусов насекомых. Бергольд [20] предполагал, что развитие вирусов полиэдроза и гранулеза начинается с одной или нескольких сферических частиц, которые растут внутри мембраны, вырастая, наконец, в палочковидную частицу. Другая теория развития вирусов насекомых была предложена Смес и Ксерос [73, 76—78]. Согласно этой теории тонкие вирусные частицы появляются из центральной хроматиновой массы ядра, инфицированного полиэдрозом. Они увеличиваются в размере и, когда окончательно вырастут, одеваются мембраной.

Как мы видим теперь, дальнейшие исследования полностью подтвердили второй путь развития вирусов насекомых.

Уже при изучении ультратонких срезов тканей гусениц *Ardices glatignyi*, инфицированных вирусом полиэдроза, Томлин и Монро [92] обратили внимание, что сформированные пучки вирусных частиц впоследствии погружаются в «иной материал» с образованием полиэдров.

В настоящее время многими авторами описан морфогенез полиэдрозов и гранулезов разных насекомых. Эти описания подтверждают и детализируют общую схему развития вирусов, приведенную нами в начале этой главы.

При инфицировании гусениц еловой хвоевертки (*Choristoneura fumiferana*) вирусом ядерного полиэдроза на ультратонких срезах можно проследить появление первых признаков инфекции. В инфицированных ядрах среди сети тонких нитей появляются тельца, темнокрашенные уранилацетатом. Эти тельца представляют скопления вирусных частиц, расположенных группами, или пучками.

Вскоре в ядре появляются двойные мембраны. Вирионы ориентируют себя по направлению к мембранам, прикрепляются к ним и одеваются этими мембранами. Пучки вирусных частиц, одетые мембраной, мигрируют далее в области электронно-плотного материала, представляющего собой места образования белкового матрикса полиэдров, в которые они погружаются. При этом формируются полиэдры. Белок полиэдров образует правильную макромолекулярную паракристаллическую решетку. В белковый матрикс погружаются только «одетые» вирионы.

Развитие вируса гранулеза этого насекомого происходит сходным образом. Различие заключается лишь в том, что в белковый матрикс погружается один вирион, образуя капсулу, или гранулу [28]. Обычно образование капсулы начинается с одного конца вириона. Белок гранул, так же как и белок полиэдров, имеет правильную макромолекулярную кристаллическую решетку. После разрыва ядерной мембраны гранулы выходят в цитоплазму и продолжают размножаться в цитоплазме [47].

На основании своих исследований Хюгер, Криг [45, 50] и Бэрд [27] высказали предположение о том, что развитие вируса гранулеза начинается в ядре и после разрыва ядерной мембраны продолжается и в области ядра, и в области цитоплазмы. При инфицировании гусениц *Hyphantria cunea* гранулезом полное разрушение ядерной мембраны наблюдается в момент появления вирионов между нитями цитоплазмы в ядре. Вирионы одеваются белком обычно с одного конца и образуют гранулы, или капсулы [99].

Полный нормальный цикл развития вируса ядерного полиэдроза в гиподерме был прослежен у восточной пяденицы (*Lambdina fiscellaria fiscellaria*) [35]. Кусочки гусениц фиксировались через последовательные промежутки времени после инфициро-

вания, и на ультратонких срезах можно было наблюдать все стадии развития вируса.

В ранней стадии инфицирования виrogenная строма заполняет наибольшую часть ядра. В ней беспорядочно расположены вирионы. Затем виrogenная строма приобретает вид сети, материал, из которого она состоит, постепенно истощается и, наконец, исчезает. Вирионы передвигаются из стромы в другую область ядра, собираются в группы, или пучки, состоящие из 2—25 вирионов, и одеваются двойной мембраной.

К моменту истощения виrogenной стромы начинается образование полиэдрического матрикса. Пучки вирионов, одетые мембраной, передвигаются по направлению к развивающимся полиэдрам и заключаются в них. Здесь также не наблюдается заключения в полиэдр вирионов, не одетых мембранами. Такие «голые» вирионы располагаются в виде правильной кристаллической упаковки вблизи центра ядра, но никогда не наблюдались в полиэдрах.

Сходный путь развития наблюдается при полиэдрозе и гранулезе капустной металлоидки (*Trichoplusia ni*) [85]. В этом случае удалось впервые наблюдать нити, образующиеся между мембраноподобными структурами. Эти нити были связаны также и с поверхностью растущих включений. Включения образовывались в присутствии большого числа «голых» вирусных частиц, но заключение вирионов в полиэдр наблюдалось только после обволакивания их внешней мембраной. Наблюдались также случаи вхождения внешних мембран без вирионов в гранулу, что позволяет предположить наличие у мембран двойного специфического сродства: к вирусу и к белку включений.

Изучая развитие двух вирусов ядерного полиэдроза *Nematospora pseudotsugata*, один из которых образует пучки вирионов в полиэдре, а другой — отдельные палочки, Хьюгс [47a] наблюдал при развитии инфекции прежде всего появление в инфицированном ядре трубчатых структур. Эти структуры имели диаметр, равный диаметру вирусных частиц, но были гораздо менее электронно-плотными. Автор предполагает, что трубчатые структуры являются предшественниками капсидов, они сегментируются и наполняются электронно-плотным материалом, состоящим из ДНК и белка.

При изучении морфогенеза и динамики размножения вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда в клеточной линии этого насекомого были выявлены три фазы развития. В первой, латентной фазе, продолжающейся до 12 час. после инфицирования, происходит внедрение вирусных частиц в клетку с помощью фагоцитоза и виropексиса. Голые вирусные палочки прикреплены к ядерной мембране в области ядерной поры.

Во второй, экспоненциальной фазе, продолжающейся между 16 и 48 час. после инфицирования клеток, в ядрах наблюдаются электронно-плотные участки, изменяющиеся затем в элект-

ронно-плотную сеть, которая через 32 часа становится связанной с многочисленными голыми вирусными палочками. Наконец, в третьей, стационарной фазе около 90% вирионов одеваются мембраной и заключаются в полиэдр (36—40 час. после инфицирования) [64a].

Обычно типичными тканями, в которых развиваются вирусы рода *Baculovirus*, являются гиподерма, жировая ткань, трахеальный матрикс и гемолимфа. Однако многие исследователи наблюдали наряду с обычным развитием вируса, вплоть до образования полиэдров и гранул в этих тканях, «необычный путь» развития вируса в кишечнике насекомого-хозяина.

До сих пор считалось, что ядерные полиэдрозы кишечника поражают только насекомых из отряда перепончатокрылых (*Hymenoptera*). Они относились к другому роду полиэдров (*Birdiavirus*) и считались полиэдрозами, резко отличными от обычных ядерных полиэдрозов, поражающих главным образом насекомых из отряда чешуекрылых (*Lepidoptera*).

Развитие вируса ядерных полиэдрозов чешуекрылых одновременно в обычных для них тканях и в клетках кишечника наблюдалось у *Plusia chalytes* и *Trichoplusia ni* [52, 91], у *Aglaia urticae* [41], у *Lambdina fiscellaria fiscellaria* [35].

Одновременное развитие в обычных тканях и в клетках кишечника наблюдалось и при гранулезе насекомых у *Trichoplusia ni* [86] и *Harrisina brillians* [75]. Принципиальная разница в развитии вируса в обычных тканях и в кишечнике заключалась в том, что в кишечнике вирионы не заключались в полиэдры, хотя и были окружены белковым матриксом. Канингем [35] проследил на ультратонких срезах развитие вируса ядерного полиэдроза *Lambdina fiscellaria fiscellaria* и показал, что раньше, чем вирионы появляются в гиподерме насекомого, они обнаруживаются в ядрах клеток средней кишки. Уже через 4 дня после инфицирования гусениц суспензией вируса, содержащей 10⁷ полиэдров в 1 мл, в ядрах клеток средней кишки появляются виrogenная строма и беспорядочно расположенные в ней палочковидные вирионы. Некоторые вирионы образуют группы из двух или четырех вирионов и одеваются мембранами. Одетые вирионы передвигаются к ядерной мембране и окружаются там интенсивно окрашивающимся уранилацетатом материалом. Можно предположить, что этот материал представляет собой белок полиэдров. Однако заключения вирионов в этот материал не происходит и полиэдров не образуется.

В то же время в гиподерме наблюдается путь развития вируса, оканчивающийся заключением вирионов в белковый матрикс и образованием полиэдров.

Известно, что в природных условиях наиболее обычным и распространенным способом инфицирования гусениц является заражение через корм. Таким образом, полиэдры или гранулы прежде всего попадают в кишечник насекомого; известно также,

что щелочная среда среднего отдела кишечника гусениц способствует растворению полиэдров и гранул и освобождению из них вирионов и инфекционной нуклеиновой кислоты.

По-видимому, своеобразные условия в клетках кишечника или присутствие в них каких-либо ингибиторов делают невозможным окончание нормального цикла развития вируса, и он оказывается незаключенным в полиэдры или гранулы.

СТРУКТУРА И МОРФОГЕНЕЗ ВИРУСА ОСПЫ НАСЕКОМЫХ (ENTOMOROVIRUS)

Вирус оспы насекомых был впервые описан Ваго в 1969 г. [95] у майского хруща (*Melolontha melolontha*). Вирус поражает цитоплазму жирового тела насекомых и характеризуется образованием в цитоплазме двух типов включений — веретенновидных и яйцевидных, так называемых сфероидов или овоидов. И те и другие включения варьируют по величине и у некоторых видов достигают 24—26 мк (см. табл. 7). Обычно веретенновидные включения меньше по размерам, чем овоиды, и гомогенны по структуре. На рис. 31 представлен срез жировой ткани зимней пяденицы (*Operophtera brumata*), пораженной вирусом оспы [101]. На срезах хорошо видны крупные овоиды, заполненные вирионами, вокруг которых расположены веретенновидные включения. Последние содержат белковое вещество с правильной кристаллической упаковкой. Внутри овоидов расположены овальные вирионы с характерной шероховатой внешней мембраной и центральной плотной сердцевинкой внутри.

Вирионы *P. horticola* сходны с вирионами оспы позвоночных и другими представителями оспы насекомых, но отличаются от них по величине и форме. Вирус оспы хвоевертки (*Choristoneura biennis*), так же как и все вирусы этой группы, представлен овальными вирионами, которые на ультратонких срезах имеют размеры 400 x 300 нм. Они содержат большую плотную сердцевину и имеют характерную шероховатую поверхность. Вирионы заключены в сравнительно крупные (3,2 x 2,2 мк и более) яйцевидные включения [31] (см. рис. 6). Подобные же вирионы и включения обнаруживаются у другого вида листовертки — *Choristoneura fumiferana* при инфицировании ее вирусом *Ch. biennis*.

У комаров *Camptochironomus tentans* описан вирус, имеющий сходство с вирусами группы оспы [103]. Он локализуется в жировом теле насекомого и образует крупные овальные включения (2—6 x 8—10 мк). Внутри включений содержатся сотни вирионов также овальной формы и размерами 200—300 x 130—150 нм. При этом не наблюдается «пустых» овальных включений, как у *Melolontha*, или нитей, как у *Operophtera*. В инфицированных клетках может содержаться от одного до шести включений, которые находятся в тесной связи с ядром.



Рис. 31. Овоиды и веретенновидные включения оспы зимней пяденицы (*Operophtera brumata*). Внутри овоидов видны вирионы [101]

Недавно Суттер [87] наблюдал развитие вируса оспы насекомых в клетках жирового тела *Euxoa auxiliaris*. Уже на 6-й день после инфицирования насекомых из электронно-плотных гранулярных масс (виروплазмы) появляются овальные вирионы длиной 300—400 нм, окруженные двойной мембраной. Эти вирионы очень сходны по морфологии и строению с вирусами оспы, описанными у цикадки *Melanopus sanguinipes* и медведицы *Estigmene acrea*. На ультратонких срезах в центре овальных вирионов хорошо видна плотная сердцевина («core»), имеющая форму бруска или кирпичика.

На 9-й и 13-й дни после инфицирования гусениц в цитоплазме жировых клеток значительно увеличивается число незрелых вирионов и телец-включений.

Вирионы радиально ориентированы по направлению к центру включений, и зрелые вирионы, одетые волнистой мембраной, заключаются в них. По-видимому, во время созревания вирио-

нов происходит их сокращение, так как заключенные вирионы обычно на 1/3 меньше незрелых вирионов.

Электронно-плотную сердцевину зрелых вирионов как бы оплетает «канатик», в котором можно иногда насчитать до шести петель.

В отличие от вирусов оспы *Melolontha* и *Operophtera* при развитии вируса оспы *Euxoa* не удалось наблюдать веретеновидных включений в цитоплазме. Вирус не был обнаружен также и в клетках средней кишки.

На ультратонких срезах инфицированных гусениц зимней пяденицы (*Operophtera brumata*) первым признаком инфекции были мелкие электронно-плотные гранулы, расположенные группами. Они увеличивались в размерах, приобретая веретеновидную форму, и были гомогенны по структуре. В цитоплазме клеток наблюдались, кроме того, длинные спиральные нити, имеющие такую же структуру и электронную плотность, как и веретеновидные включения.

Вирусные частицы появлялись сначала как пустые мембраны или фрагменты мембран, а затем уже как овальные структуры размером 450—500 x 400—470 нм. Покрывающая их интимная мембрана имела 10 нм в толщину. На ультратонких срезах наблюдаются также крупные овальные включения размером 3—4 x 5—6 мк, иногда до 15 мк, в которые погружены зрелые вирусные частицы (от 10 до 100 и более). Зрелые частицы имеют плотную центральную сердцевину, вторую мембрану и размеры 350 x 250 нм [104]. По-видимому, при созревании частиц происходит их уплотнение, что наблюдалось и при созревании вирионов [87] *Euxoa auxliaris*.

Включения типа оспы описаны уже у 17 видов насекомых.

Как видно из табл. 7, вирусы оспы насекомых встречаются не только у разных видов насекомых одного рода, но поражают представителей разных отрядов.

Таблица 7
Размеры включений (овоидов) и вирионов *Entomorphovirus*

Насекомое-хозяин	Размеры овоидов, мк	Размеры вирионов, нм	Литературный источник
<i>Euxoa auxliaris</i>	3,7—4,7	165×260	[87]
<i>Choristoneura biennis</i>	3,2—2,2	400×300	[31]
<i>Chironomus luridus</i>	4—7	320—230×110	[46]
<i>Melolontha melolontha</i>	10—24	450—500×250	[17]
<i>Operophtera brumata</i>	2,5—3	250—370	[100]
	3—4×5—6	450—500	[104]
<i>Camptochironomus tentans</i>	2—16×8—10	200—300×130—150	[103]
<i>Philopherta horticola</i>	6—25	240—400	[96]
<i>Geotrupes silvaticus</i>	3,5—11	366—416×255—286	[56]

Группа вирусов оспы насекомых имеет очень интересный и сложный цикл развития, однако он принципиально сходен с циклом развития *Vasculovirus* в том, что вирионы, одетые мембранами, заключаются во включения, так называемые овоиды или сфероиды.

В настоящее время наиболее обстоятельно различные стадии развития этого вируса описаны у майского хруща (*Melolontha melolontha*) в лаборатории Ваго [17]. Наблюдение проводилось на ультратонких срезах личинок майского хруща, инфицированного вирусом, открытым в этой же лаборатории. Следует сказать, что открытие этой новой группы вирусов насекомых было сделано при исследовании больных личинок в световом микроскопе.

Характерным признаком заболевания оспой кроме внешних симптомов, выражающихся в побелении и размягчении тканей больных личинок, является образование двух типов крупных включений хорошо видимых в световом микроскопе на обычных гистологических срезах.

В электронном микроскопе на ультратонких срезах можно видеть различные стадии морфогенеза вируса в цитоплазме жирового тела больных личинок.

Первый тип частиц: раньше всего появляются двухслойные мембраны в виде полукруга или полумесяца. Один слой имеет ширину 75 Å, другой — 100 Å. Между мембранами имеется ясно видимый промежуток. Таким образом, вирусные мембраны имеют типичную трехслойную структуру.

Второй тип частиц, который наблюдается на ультратонких срезах, — округлые или слегка овальные вирионы с $d=400—500$ нм, небольшой электронной плотности. Они содержат иногда своеобразные пластинчатые структуры с $d=600—800$ Å.

Третий тип частиц, который также можно наблюдать на ультратонких срезах больных личинок, сходен с частицами второго типа, но содержит гомогенный электронно-плотный материал. Внешняя мембрана этих частиц выглядит более контрастной, чем внутренняя.

Четвертый тип частиц сходен с частицами второго и третьего типов, но содержит эксцентрически расположенную плотную сердцевину.

Кроме того, в областях, где происходит морфогенез, наблюдаются, как правило, два типа округлых масс, один из которых имеет среднюю электронную плотность, второй — более электронно-плотный. Изредка можно наблюдать слоистые структуры неодинаковой толщины, имеющие правильную кристаллическую упаковку. По периферии этих виrogenных областей беспорядочно расположены овальные частицы размером 450 x 250 нм. Их внешняя мембрана покрыта электронно-плотным материалом неодинаковой толщины, что определяет неправильные очертания вириона. Внутри частицы находится эксцентрически распо-

ложенная продольно-вогнутая сердцевина (или «нуклеоид»), ограниченная трехслойной мембраной 400—500 Å толщины.

Внешний слой мембраны вирусных частиц состоит из правильно ориентированных «маленьких палочек», придающих «ребристый» вид поверхности вирионов.

К пятому типу структур относятся вирионы, у которых пространство между сердцевиной и мембраной электронно-прозрачное.

Серцевина («нуклеоид») вириона наполнена плотным материалом волокнистой структуры,— это шестой тип структур, наблюдающийся в виrogenных областях.

В определенных местах цитоплазмы, вдали от виrogenных областей, находятся округлые электронно-плотные включения паракристаллической структуры. Обычно в клетке содержится 1—2 таких включения. Они варьируют по величине от нескольких микрон до 15—20 мк. Крупные включения содержат много овальных вирионов, расположенных радиально.

Мы описали здесь различные структуры, наблюдавшиеся в пораженных вирусом оспы личинках *Melolontha melolontha*. В отличие от *Baculovirus* развитие вируса оспы происходит очень медленно (до нескольких месяцев), поэтому трудно проследить в динамике инфекции развитие вируса у личинок. По-видимому, последовательность всех стадий развития вируса оспы *Melolontha* можно будет более четко проследить в культуре ткани майского хруща. В настоящее время можно только предполагать, что развитие вируса оспы *Melolontha* протекает по схеме, предложенной Бергуа и др. [17].

Согласно этой схеме незрелые вирусные частицы и трехслойные мембраны появляются в определенных областях цитоплазмы (сравнимых с «вирусными факториями» вируса оспы человека и животных).

Мембраны одевают вирусные частицы, образуя сначала менее плотные, затем более плотные вирионы. Далее внутри частиц образуется эксцентрически расположенный «нуклеоид», состоящий из электронно-плотного материала. Наконец, эти зрелые вирионы заключаются в яйцевидные включения, которые имеют белковую природу и паракристаллическое строение. Однако эти включения ближе по своему составу и структуре к полиэдрам и гранулам насекомых, чем к включениям типа А коровьей оспы, экстремелии и птичьей оспы.

СТРУКТУРА И МОРФОГЕНЕЗ РАДУЖНЫХ ВИРУСОВ (IRIDOVIRUS)

Впервые радужный вирус был изолирован и описан у болотной долгоножки *Tipula paludosa* [107]. Из больных радужной болезнью насекомых в настоящее время многими исследователями изолированы сравнительно крупные икосаэдрические вирусы

около 1500 Å в диаметре (см. табл. 8). Вирионы радужных вирусов окружены двойной мембраной. Для изучения структуры вирусов используются методы негативного и позитивного контрастирования с изучением их в электронном микроскопе.

Оказалось, что при обычных способах негативного контрастирования радужных вирусов трудно получить разрешение поверхностной структуры вирионов. Было сделано предположение, что частицы вируса покрыты мукополисахаридом, мешающим проникновению негативной краски между субъединицами [59].

Для устранения мукополисахаридов с поверхности частиц вирусная суспензия обрабатывалась африном (препаратом, разрушающим носовой секрет) в течение 48 час. при комнатной температуре. После такой обработки около 10% частиц обнаруживали детали строения поверхности.

Исходя из расстояния между субъединицами (71,5 Å) и диаметра частицы (860 ± 27 Å), было высчитано число капсомеров на поверхности икосаэдра [106].

Для радужного вируса *Tipula* число капсомеров равнялось 1562, для радужного вируса *Sericesthis* — 1292—1472. Ранее Смит и Хилс [78] обнаружили 812 капсомеров у вируса *Tipula*.

При продолжительном хранении радужного вируса *Tipula* (2 месяца, 4°С) происходит дезинтеграция вирусных частиц на треугольные структуры, трисимметроны с 55 гексагональными упаковками субъединиц в одном трисимметроне.

Радужный вирус *Corethrella brakeleye* (Diptera) имеет средний диаметр частиц 127,6 нм. Его кристаллическая упаковка в жировом теле насекомого характерна для этой группы вирусов, так же как и структура гексагональных частиц с более плотной сердцевиной в центре.

У рисовой стеблевой огневки (*Chilo suppressalis*) гексагональные вирионы с $d=160$ нм и плотной сердцевиной очень похожи на вирионы *Tipula paludosa*, *Sericesthis pruinosa* и MYV (радужный вирус комаров), однако серологически они различаются.

Эффект радужного свечения вирусов в больном насекомом обусловлен дифракцией видимого света и правильной паракристаллической упаковкой вирусных частиц. Расстояние между центрами частиц ровно 1300 Å.

У больных комаров *Aedes taeniorhynchus* один штамм вируса давал оранжевое свечение и был назван R-вирусом (regular), другой штамм вызывал сине-зеленое свечение и был назван Т-вирусом (turquoise) [58]. Холл и Лав [38] сравнивали физические свойства этих двух «штаммов» радужного вируса *Aedes taeniorhynchus*. Вирусы тщательно очищались многократным дифференциальным центрифугированием и двукратным центрифугированием в градиенте плотности сахарозы.

В градиентах хлористого цезия и сахарозы вирус R занимал более низкую позицию, чем вирус Т, что указывало на большую

плотность или величину вируса R. Измерения двух штаммов вируса в электронном микроскопе показали, что вирус R был больше по величине, чем вирус T.

В морфогенезе радужных вирусов насекомых (Iridovirus) в отличие от Baculovirus и Entomovirus отсутствует стадия заключения вирионов в белковый матрикс. Зрелые вирионы являются последним этапом морфогенеза радужных вирусов. В табл. 8 приводятся размеры некоторых радужных вирусов насекомых.

Таблица 8
Размеры радужных вирусов насекомых (Iridovirus)
(форма вирионов икосаэдрическая)

Насекомос-хозяин	Размеры вирионов, нм	Число капсомеров	Литературный источник
Tipula paludosa	150	812	[77]
	130	1562	[106]
	130	—	[26]
Sericesthis pruinosa	130	1292—1472	[36] [106]
Chilo suppressalis	160	—	[37]
Corethrella brakellyi	125—132	—	[33]
Aedes taeniorhynchus R	195±4,5	—	[38]
Aedes taeniorhynchus T	160±6,8	—	[38]
Simulium ornatum	140—160	—	[102]
Aedes caspius dorsalis	210	—	[4]

При инфицировании радужным вирусом Tipula личинок основного хозяина — болотной долгоножки (Tipula paludosa) и большой пчелиной моли (Galleria mellonella) наблюдаются сходные картины морфогенеза [25].

Через 5 суток после инфицирования личинок на гистологических срезах в световом микроскопе в цитоплазме клеток жирового тела, шелковичной железы (Galleria), эпидермиса, трахеального эпителия и мышцах можно наблюдать участки неправильной формы, интенсивно окрашивающиеся железным гематоксилином.

Идентичные участки в цитоплазме окрашиваются также положительно по Фельгену, что свидетельствует о наличии в них ДНК.

На ультратонких срезах в цитоплазме этих же тканей можно видеть участки электронно-плотного материала, с которым связаны многочисленные вирусные частицы икосаэдрической формы. Гусеницы погибают на 6—29-й день после инфицирования.

В тканях комаров Aedes taeniorhynchus [39], инфицированных радужным вирусом, наиболее активным местом размножения вирусов является жировая ткань, но вирионы обнаруживаются также и в трахеальном эпителии, эпидермисе и имагинальных дисках, где число их сильно варьирует — от нескольких вирионов до многочисленных скоплений. Было показано, что радужный вирус типа R поражает только жировое тело и имагинальные диски A. taeniorhynchus [57].

СТРУКТУРА И МОРФОГЕНЕЗ ВИРУСОВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ ПОЛИЭДРОЗЫ (REOVIRUS)

Вирусы цитоплазматических полиэдрозов развиваются в цитоплазме клеток средней кишки насекомых. Полиэдры впервые были описаны у медведиц — Arctia caja и Arctia villica [72]. Полиэдры цитоплазматических полиэдрозов чрезвычайно варьируют по размерам и форме, и под световым микроскопом они выглядят иногда как сферические структуры (см. рис. 11). Однако, как и у ядерных полиэдров, в одной клетке обычно присутствуют включения одинаковых размеров и формы.

Величина цитоплазматических полиэдров связывается некоторыми авторами со временем, которое проходит от инфицирования гусениц до появления симптомов заболевания, с местом их локализации в кишечнике, с голоданием гусениц [79].

Следует обратить внимание на трудность диагностирования цитоплазматических полиэдров под световым микроскопом. В цитоплазме присутствует много различных структурных компонентов, которые легко могут быть приняты за полиэдры.

Самым надежным диагнозом цитоплазматических полиэдров является диагноз электронно-микроскопический (ультратонкие срезы), показывающий внутри полиэдра присутствие икосаэдральных вирусных частиц (рис. 32).

Цитоплазматические полиэдры труднее ядерных растворяются в слабых щелочных растворах и в процессе растворения не отслаивают оболочки, как это наблюдается у ядерных полиэдров. Часто при растворении цитоплазматических полиэдров бывает трудно добиться полного освобождения вирионов от белкового матрикса полиэдров. Смес [79] рекомендует для получения чистой взвеси полиэдров быстрое извлечение кишечника у больных гусениц под водой. В этом случае из кишечника освобождаются неизмененные полиэдры.

Чистые вирионы могут быть получены из полиэдров диализом их в течение 4 час. против Na₂CO₃ (рН 10), затем против воды. Для осаждения крупных примесей экстракт центрифугируется при 10 000 об/мин в течение 15 мин., а затем подвергается центрифугированию в градиенте плотности сахарозы. При этом получается ясно видимый слой, содержащий чистые вирионы.

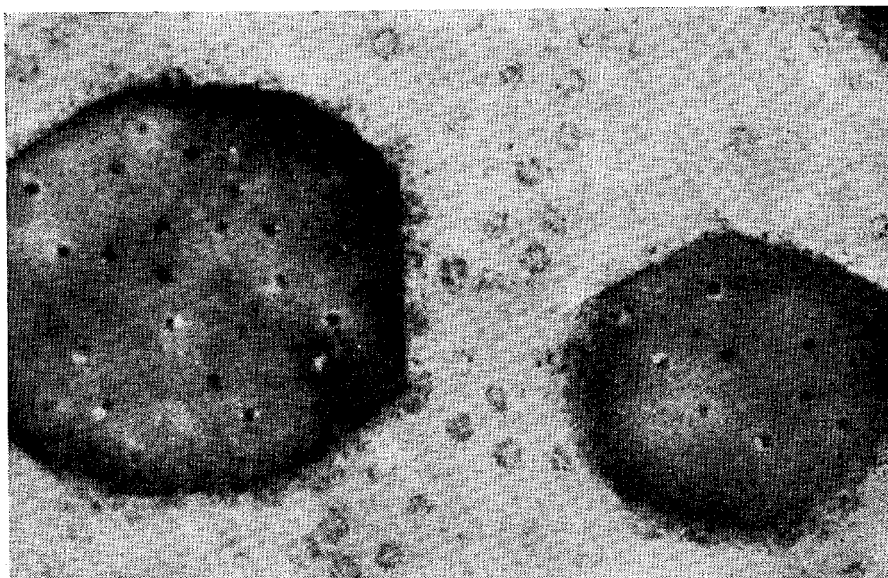


Рис. 32. Ультратонкий срез через клетку средней кишки *Choristoneura fumiferana*, инфицированную вирусом цитоплазматического полиэдроза. $\times 62\,000$ [30]

Вирионы цитоплазматических полиэдров осаждаются при 36 000—50 000 об/мин в течение 30—40 мин.

Вирионы представляют собой икосаэдры и состоят из двух concentрических оболочек с $d=69$ и 45 нм. Каждая оболочка имеет по 12 белковых субъединиц, расположенных у 12 вершин икосаэдра. 12 трубчатых структур связывают эти субъединицы. Такое строение вирионов цитоплазматических полиэдров обнаружено у *Bombux mori* [44] и *Orgia leucostigma* [29]. У вирионов цитоплазматических полиэдров тутового шелкопряда у вершин икосаэдров обнаружены маленькие шаровидные образования, одинаковые по форме и размерам ($d=12$ нм). Предполагается, что они играют роль в адсорбции вируса на клетки хозяина и в геммагглютинации эритроцитов [15].

В табл. 9 приводим данные о размерах вирионов и полиэдров некоторых вирусов цитоплазматических полиэдрозов.

Развитие вирусов цитоплазматического полиэдроза можно проследить на ультратонких срезах гусениц еловой хвоевертки (*Choristoneura fumiferana*) [30].

Через 5 дней после инфицирования гусениц IV—V возрастов вирусом цитоплазматического полиэдроза в цитоплазме средней кишки гусениц появляются небольшие участки вироплазмы, в которой возникают вирусные частицы с d около 70 нм и полиэдры

Таблица 9

Размеры полиэдров и вирионов некоторых представителей группы Reovirus

Насекомое-хозяин	Размеры полиэдров, мк	Размеры вирионов, нм	Литературный источник
<i>Arctia caja</i> , <i>A. villica</i>	1—5	65	[72]
<i>Thaumetopoea pityocampa</i>	0,5—4,6	40—50	[93]
	1,5	—	[108]
<i>Choristoneura fumiferana</i>	1,2	70	[30]
<i>Hyphantria cunea</i>	0,5—3,0	20—45	[94]
<i>Colias philodice eurytheme</i>	1—9	30—50	[105]
<i>Triphaena (Agrotis) pronuba</i>	0,6—4,5	80—90	[54]
<i>Axylia putris</i>	0,6—4,5	80—90	[54]
<i>Noctua fimbriata</i>	0,6—4,5	80—90	[54]
<i>Pseudaletia unipuncta</i>	0,5—5,0	50—64	[90]

с $d=1,2$ мк. И частицы, и полиэдры заполняют большую часть клетки.

По мере распространения заболевания нормальные клеточные компоненты (митохондрии, рибосомы и др.) разрушаются и или полностью исчезают, или располагаются кольцом по внешней стороне клеток.

Полиэдры развиваются из плотного материала, который «притягивает» и окружает вирусные частицы. В растущие полиэдры включаются только те вирусные частицы, у которых имеется хорошо заметная плотная сердцевина. Большая часть вирусных частиц не входит в полиэдры, но они лишены сердцевины и являются незрелыми.

По мере созревания полиэдров они приобретают гладкие очертания и полиэдрическую форму.

Ядра клеток при развитии вирусов цитоплазматического полиэдроза остаются неизменными, иногда только наблюдается их смещение или появление складок, что вызвано давлением развивающихся масс вирусных частиц в цитоплазме. При развитии цитоплазматического полиэдроза *Orgia leucostigma* на ранних стадиях инфекции образуются большие массы, состоящие из скоплений незрелых вирусных частиц [29].

СТРУКТУРА ВИРУСОВ ОСТРОГО ПАРАЛИЧА И МЕШОТЧАТОГО РАСПЛОДА ПЧЕЛ (ENTEROVIRUS)

В жидком содержимом личинок медоносной пчелы (*Apis mellifera*) с типичными симптомами заболевания мешотчатым расплодом были обнаружены в большом количестве однообразные сфе-

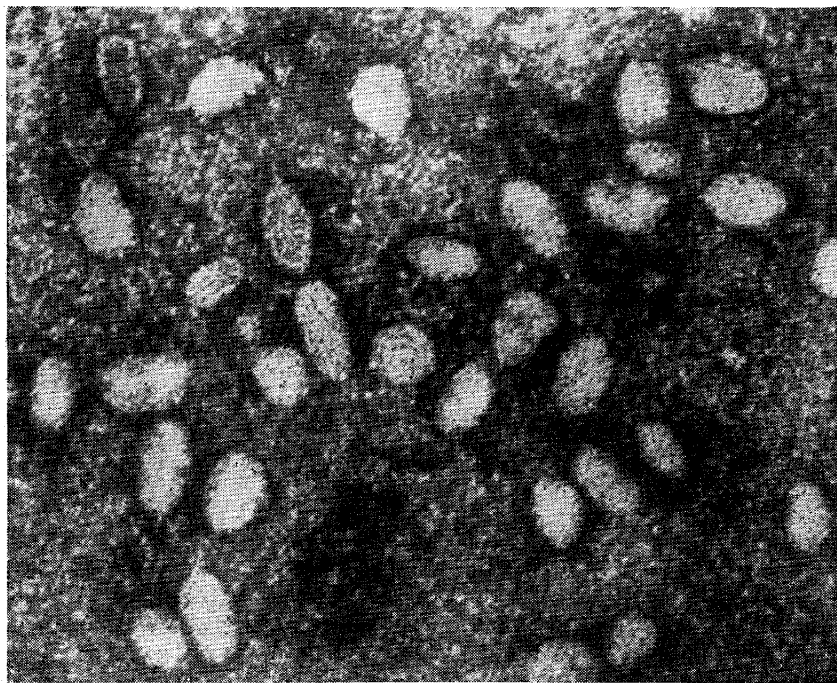


Рис. 33. Вирус хронического паралича пчел (*Apis mellifera*) [53]

рические частицы с $d=30\pm 2$ нм [32]. Ли и Фургала [53] при этом же заболевании наблюдали частицы с $d=28$ нм. Они различались по своей структуре. Одни из них были гомогенными по плотности, другие имели плотный, эксцентрически расположенный нуклеоид с $d=19-23$ нм, а третьи были пустыми, так как полностью импрегнировались фосфорно-вольфрамовой кислотой.

Морфологически сходные частицы наблюдаются при остром параличе пчел в цитоплазме клеток жирового тела. Частицы имеют $d=28$ нм, они или располагаются свободно, или упакованы в кристаллические решетки (рис. 13).

Вирионы вируса хронического паралича пчел отличаются по морфологии от вирионов вирусов острого паралича и мешотчатого расплода пчел (рис. 33).

Вирусы сигма дрозофилы (*Rhabdovirus*) изучены недостаточно. Известно, что вирионы вируса сигма имеют пулевидную форму и размеры 70×140 нм [63, 67].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бергольд Д. Х. 1956. Природа размножения вирусов. Пер. с англ. М., ИЛ.
2. Гершензон С. М. 1960. Вопросы вирусол., № 1, 101.
3. Гулий В. В. 1971. Биол. науки, № 10, 12.
4. Ермакова Г. И. 1972. Докл. ВАСХНИЛ, № 11, 36.
5. Жимерикин В. Н., Гулий В. В. 1972. Изв. Сиб. отд. АН СССР, № 1, 68.
6. Кок И. П., Чистякова А. В., Гудзь-Горбань А. П., Соломко А. П. 1968. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
7. Рындовская Ю. Л., Тарасевич Л. М., Авакян А. А. 1972. Вопросы вирусол., № 2, 200.
8. Сирко Л. А., Тополян О. П., Груздева В. А., Мосолов А. Н. 1967. Изв. Сиб. отд. АН СССР, № 15, 3.
9. Тарасевич Л. М., Лонишаква Е. В., Дуло В. Ю. 1968. Материалы научн. совещ. по тутовод. и защите шелкопряда и шелковицы от болезней и вредителей. Тбилиси.
10. Шведчикова Н. Г., Тарасевич Л. М. 1968. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
11. Шведчикова Н. Г., Уланов Б. П., Тарасевич Л. М. 1968. Вопросы вирусол., № 5, 631.
12. Шведчикова Н. Г., Уланов Б. П., Тарасевич Л. М. 1969. Молек. биол., № 3, 631.
13. Adams J. B., Wallis R. L., Wilcox T. A., Faust R. M. 1968. J. Invert. Pathol., 11, 45.
14. Arnott H. J., Smith K. M. 1968. J. Ultrastruct. Res., 22, 136.
15. Asai J., Kowamoto F., Kawase Sh. 1972. J. Invert. Pathol., 2, 279.
16. Benz G. 1963. J. Insect Pathol., 5, 215.
17. Bergoin M., Deauchelle G., Vago C. 1969. Arch. Ges. Virusforsch., 28, 285.
18. Bergold G. H. 1947. Zeitschr. f. Naturforsch., 3, 122.
19. Bergold G. H. 1948. Zeitschr. J. Naturforsch., 3, 25.
20. Bergold G. H. 1950. Canad. J. Res., 28, 5.
21. Bergold G. H., Flaschentrager B. 1957. Nature, 180, 1046.
22. Bergold G. H., Ripper W. E. 1957. Nature, 180, 764.
23. Bergold G. H. 1963. J. Insect Pathol., 5, 111.
24. Bird F. T. 1952. Biochim. et Biophys. acta, 8, 360.
25. Bird F. T. 1961. Canad. J. Microbiol., 7, 827.
26. Bird F. T. 1962. Canad. J. Microbiol., 8, 533.
27. Bird F. T. 1963. J. Insect Pathol., 5, 368.
28. Bird F. T. 1964. Canad. Microbiol., 10, 49.
29. Bird F. T. 1965. Canad. J. Microbiol., 11, 497.
30. Bird F. T. 1966. Canad. J. Microbiol., 12, 337.
31. Bird F. T., Sanders C. J., Burke J. M. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 159.
32. Brčak J., Svoboda J., Králík O. 1963. J. Insect Path., 5, 385.
33. Chapman H. C., Clark T. B., Anthony D. W., Glenn F. E. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 284.
34. Cunningham J. C. 1970. Proceedings IVth Intern. Coll. Insect Pathol., USA.
35. Cunningham J. C. 1971. Canad. J. Microbiol., 17, 69.
36. Day M. F., Mercer E. H. 1964. Austr. J. Biol. Sci., 17, 892.
37. Fukaya M., Nasu S. 1966. Appl. Ent. Zool., 1, 69.
38. Hall D. W., Lowe R. E. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 317.
39. Hall D. W., Anthony D. W. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 61.
40. Harrap K. A., Juniper B. E. 1966. Virology, 29, 175.
41. Harrap K. A., Robertson D. 1968. J. Gen. Virol., 3, 221.
42. Heimpel A. M., Adams J. R. 1966. J. Insect Pathol., 8, 340.
43. Henry J. E., Jutila J. W. 1966, 8, 3, 417.
44. Hosaka Y., Aizawa K. 1964. J. Insect Pathol., 6, 53.
45. Huger A., Krieg A. 1961. J. Insect Pathol., 3, 183.
46. Huger A. M., Krieg A. 1970. J. Invert. Pathol., 15, 253.
47. Hughes K. M. 1952. J. Bacteriol., 64, 375.
- 47a. Hughes K. M. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 198.

48. Ignoffo C. M. 1968. Current Topics in Microbiol. a. Immunol., **42**, 129, Springer-Verlag, Berlin — N.-Y.
49. Kellen W. R., Clark T. B., Lindegren J. E. 1963. J. Insect Pathol., **5**, 98.
50. Krieg A., Hüger A. 1969. J. Invert. Pathol., **13**, 279.
51. Krieg A. 1961. Zeitschr. Naturforsch., **166**, 115.
52. Laudeho Y., Amargier A. 1963. Rev. Pathol. Veg. Entomol. Agr. Fr., **42**, 207.
53. Lee P. E., Furgala B. 1965. Virology, **25**, 387.
54. Lipa J. Y. 1970. Acta Microbiol. Polon., ser. B, **2**, 237.
55. Lipa J. Y., Ziemnicka J., Gudź-Gorban A. P. 1971. Acta Microbiol. Polon., ser. B, **3**, 1, 55.
56. Lipa J. Y., Bartkowski J. 1972. J. Invert. Pathol., **20**, 218.
57. Matta J. F., Lowe R. E. 1969. J. Invert. Pathol., **13**, 457.
58. Matta J. F., Lowe R. E. 1970. J. Invert. Pathol., **16**, 38.
59. Mercer E. H., Day M. F. 1965. Biochim. et biophys. acta, **102**, 2, 590.
60. Mochay M. L., Lovas B. 1955. Acta microbiol. Acad. Sci. hung., **3**, 117.
61. Mochay M. L., Lovas B. 1957. Biol. Közlemén, **5**, 7.
62. Morris O. N. 1963. Canad. J. Microbiol., **9**, 899.
63. Plus N. 1960. C. R. Acad. Sci. (Paris), **251**, 1685.
64. Ponsen M. B., de Jong D. J. 1964. J. Insect Pathol., **6**, 376.
- 64a. Raghow R., Grace J. D. C. 1974. J. Ultrastruct. Res., **47**, 384.
65. Richards W. C., Hayashi Y. 1971. J. Invert. Pathol., **17**, 42.
66. Sager S. M. 1957. Can. J. Microb., **3**, 799.
67. Seecof R. 1968. Current Topics in Microbiol. a. Immunol., **42**, 59, Springer-Verlag, Berlin.
68. Shvedchikova N. G., Tarasevich L. M. 1971. J. Invert. Pathol., **18**, 25.
69. Smirnof W. A. 1964. J. Insect Pathol., **6**, 384.
70. Smirnof W. A. 1966. Canad. J. Microbiol., **12**, 1076.
71. Smirnof W. A. 1968. J. Invert. Pathol., **10**, 436.
72. Smith K. M., Wychoff R. W. G. 1950. Nature, **116**, 861.
73. Smith K. M., Xeros N. 1953. Nature, **172**, 670.
74. Smith K. M., Xeros N. 1954. Parasitology, **44**, 71.
75. Smith O. J., Hughes K. M., Dunn P. N., Hall J. M. 1956. Can. Entomol., **88**, 507.
76. Smith K. M. 1956. J. Biophys. Biochem. Cytol., **2**, 301.
77. Smith K. M., Hills G. J. 1962. Proc. 5th Intern.—Conf. Electron Microscopy, **2**, Art. V-1, Acad. Press., N.-Y.
78. Smith K. M., Hills G. J. 1962. C. R. XI Int. Kongr. Entomol., Wien., p. 832 (1960).
79. Smith K. M. 1967. Insect virology. Acad. Press., N.-Y.
80. Stairs G. R. 1964. Virology, **24**, 520.
81. Stairs G. R. 1968. Current Topics in Microbiol. a. Immunol., **42**, 1.
82. Steinhaus E. A. 1947. Science, **106**, 323.
83. Steinhaus E. A. 1949. Principles of Insect Pathology. McGraw-Hill. N.-Y.
84. Steinhaus E. A., Hughes K. M. 1952. J. Econ. Entomol., **45**, 744.
85. Summers M. D., Arnott H. J. 1969. J. Ultrastruct. Res., **28**, p. 462.
86. Summers M. D. 1969. J. Virol., **4**, 188.
87. Sutter G. R. 1972. J. Invert. Pathol., **19**, 375.
88. Tanada J. 1959. J. Insect Pathol., **1**, 197.
89. Tanada J. 1964. J. Insect Pathol., **6**, 378.
90. Tanada J., Leutenegger R. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 517.
91. Tanada J., Leutenegger R. 1970. J. Ultrastr. Res., **30**, 589.
92. Tomlin S. G., Monro J. 1955. Biochim. et biophys. acta, **18**, 177.
93. Vago C. 1958. Entomophaga, **3**, 35.
94. Vago C., Vasiljevic L. 1958. Entomophaga, **3**, 197.
95. Vago C. 1963. J. Insect Path., **5**, 275.
96. Vago C., Amargier A., Duthoit J. L. 1969. Mikroskopie, **25**, 1, 378.
97. Vasiljevich L. 1962. Entomophaga Mémoire Hors., Ser. Numer **2**, s. 383.
98. Wasser H. B., Steinhaus E. A. 1951. Virg. J. Sci., **2**, 91.
99. Watanabe H., Kabayashi M. 1970. J. Invert. Pathol., **16**, 71.
100. Weiser Y., Vago C. 1966. J. Invert. Pathol., **8**, 314.
101. Weiser Y., Žizka Z. 1967. Mikroskopie, **22**, 11/12, 336.
102. Weiser Y. 1968. J. Invert. Pathol., **12**, 36.
103. Weiser Y. 1969. Acta Virol., **13**, 549.
104. Weiser Y., Tchubianishvili C., Žizka Z. 1970. Acta Virol., **14**, 314.
105. Wittig G., Steinhaus E. A., Dineen J. P. 1960. J. Insect Pathol., **2**, 334.
106. Wrigley N. G. 1970. J. Gen. Virol., **6**, 169.
107. Xeros N. 1955. Nature, **175**, 588.
108. Xeros N. 1956. Nature, **173**, 412.
109. Yamafuji K., Hashinaga F. 1966. Nature, **201**, 1158.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ

Ранее считали, что вирусы насекомых обладают ярко выраженной видовой специфичностью. Изучение вирусов цитоплазматического полиэдроза, открытых позже ядерных полиэдрозов, колебало представление о специфичности вирусов насекомых. Радужные вирусы оказались еще более удивительными в отношении круга заражаемых хозяев и инфицировали одинаково хорошо насекомых не только разных видов, но и разных отрядов — чешуекрылых, жесткокрылых, двукрылых (см. табл. 4). Сравнительно недавно открытые вирусы оспы также оказались способными поражать представителей разных отрядов насекомых (см. табл. 3). Имеющиеся литературные данные позволяют с определенностью утверждать, что разные группы вирусов обладают разной специфичностью. По общему признанию наиболее специфичными являются вирусы гранулезов.

Среди ядерных полиэдрозов существует определенная групповая специфичность, свойственная близким видам насекомых. У всех вирусов насекомых выражен гистотропизм. Подавляющее большинство вирусов насекомых имеет сродство к жировой ткани. Ядерные полиэдрозы и гранулезы обычно поражают жировую ткань, гиподерму, трахеальные оболочки и клетки гемолимфы.

Цитоплазматические полиэдрозы обычно поражают клетки эпителия средней кишки, так же как и вирусы ядерных полиэдрозов пилильщиков. Радужные вирусы и вирусы оспы поражают жировое тело насекомых.

Таким образом, разные группы вирусов, независимо от типа нуклеиновой кислоты, цикла их развития (с включениями или без них) и локализации в клетке (в ядре или цитоплазме), имеют сродство или к жировому телу, или к эпителию клеток средней кишки.

С развитием тонких методов исследования, особенно электронной микроскопии, некоторые наши представления претерпевают изменения. Оказалось, что обычные ядерные полиэдрозы и гранулезы могут развиваться в кишечнике насекомых, однако они не проходят там полного цикла развития и не заключаются в полиэдры или гранулы (см. стр. 73). Кроме того, известно много случаев, когда при массивной дозе заражения вирусом

инфекция распространяется на ткани насекомых, обычно ими не поражаемые. Механизмы тканевой специфичности вирусов насекомых совершенно не изучены.

Для выяснения специфичности вируса обычно пользуются понятием «круга заражаемых хозяев», т. е. способностью вируса поражать разные виды и даже роды и отряды насекомых.

Безусловно, круг заражаемых хозяев позволяет составить определенные представления о специфичности вируса. Однако при этом мы сталкиваемся со многими факторами, затрудняющими окончательное решение вопроса. К таким факторам относится прежде всего возможность активации собственной латентной инфекции при заражении чужеродным вирусом. Может происходить также и адаптация насекомого к чужеродному вирусу.

Как известно, латентные вирусные инфекции широко распространены у насекомых. В том случае, если инокулируемый вирус образует включения иной формы и размеров, чем собственный вирус насекомого-хозяина, то о специфичности вируса легко сделать вывод, исследуя материал погибших гусениц под световым микроскопом. В том случае, если морфология двух вирусов сходна, установить причину гибели гусениц в оптическом микроскопе не представляется возможным. Это тем более невозможно для вирусов, образующих мелкие включения, и вирусов, не образующих включений. Здесь на помощь приходит серология, как наиболее чувствительный, простой и надежный метод определения родства вирусов.

Данные биохимии вирусов насекомых и тонкого строения вирионов в дальнейшем также будут служить критериями в определении специфичности вирусов.

Примером адаптации вирусов может служить вирус ядерного полиэдроза *Trichiosampus viminalis*, который путем последовательных пассажей был адаптирован гусеницами *Trichoplusia irregularis* [38]. Вирулентность вируса повышалась вплоть до третьего пассажа, после чего оставалась на одном уровне. Адаптированный штамм не достигал той степени вирулентности, как в оригинальном хозяине. При инфицировании адаптированным штаммом первичного хозяина (*T. viminalis*) он показывал высокую степень патогенности. Это свидетельствовало о том, что в данном случае вирулентность вируса контролировалась насекомым-хозяином.

Таким образом, для окончательного суждения о специфичности вирусов насекомых необходимы перекрестные серологические реакции.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВИРУСОВ ГРАНУЛЕЗОВ
И ПОЛИЭДРОЗОВ

При перекрестном заражении гусениц *Cadra cautella* и южной амбарной огневки (*Plodia interpunctella*) соответствующими вирусами гранулезов последний не вызывал инфицирования гусе-

ниц *C. cautella*. Вирус *C. cautella* вызывал умеренную смертность (23%) у гусениц *P. interpunctella*. Ниже приведены результаты перекрестного заражения гусениц *C. cautella* и *P. interpunctella* вирусами гранулеза [27].

Вирус	Хозяин	Средний процент смертности
Контроль	—	—
<i>C. cautella</i>	<i>C. cautella</i>	85
<i>P. interpunctella</i>	—	—
Контроль	—	—
<i>C. cautella</i>	<i>P. interpunctella</i>	23
<i>P. interpunctella</i>	—	95

При инфицировании гусениц *C. cautella* своим вирусом гранулеза развивались нормальные гранулы, содержащие один вирион. На ультратонких срезах гусениц *P. interpunctella*, инфицированных вирусом гранулеза *C. cautella*, развивались aberrantные формы гранул и вирусных частиц. Так, наблюдались гранулы, содержащие 1—18 вирионов, гранулы без вирионов, гранулы с внутренними мембранами и вирусные частицы без мембран развития, погруженные в белок гранул.

При заражении этими aberrantными гранулами первичного хозяина (*C. cautella*) у гусениц образовывались нормальные гранулы. В этом случае процесс морфогенеза контролировался хозяином, а не вирусом [27]. При заражении гранулами озимой совки (*Agrotis segetum*), гусениц тутового шелкопряда (*Bombyx mori*), гусениц отличной совки (*Polia dissimilis*), карадрины (*Laphygma exigua*), совки (*Athetis ambigua*), гусениц *C. nigrum* и *Rhyacia*, *C. nigrum* все оказались невосприимчивыми к гранулезу *A. segetum*. Гранулы озимой совки оказались высокоспецифичными и не поражали близкие виды насекомых того же семейства подгрызающих совок (*Noctuidae*), дику совку (*Euxoa conspersa*), восклицательную совку (*Euxoa exclamatoris*), черноплечную совку (*Agrotis flammatra*). Некоторая часть гусениц погибала от собственного полиэдроза, а гусеницы черноплечной совки — от своего гранулеза, гранулы которых отличаются по морфологии от гранул озимой совки [4].

По нашим данным, гранулы озимой совки не инфекционны для гусениц непарного шелкопряда (*P. dispar*) и не только не активируют у них собственную латентную инфекцию, но даже подавляют продуктивную и латентную форму ядерного полиэдроза (см. стр. 145).

В противоположность данным Дикасовой [4], Липа с сотрудниками [32] получили заражение близких видов совок — *A. exclamatoris* и *A. nigrum* — гранулами озимой совки *A. segetum*. Репная белянка (*Pieris rapae*) оказалась восприимчивой к вирусу близкого вида капустной белянки (*Pieris brassicae*) [19, 42].

Вирус гранулеза *Argyrotaenia velutinana* (*Tortricidae*) не был инфекционным для гусениц *Peridroma margaritosa* (*Noctuidae*), *Yunonia coenia*, *Estigmene acraea* (*Arctiidae*), *Sabulodes caberata* (*Geometridae*) [48].

Гранулез американской белой бабочки (*Hyphantria cunea*, *Arctiidae*) не поражал гусениц тутового шелкопряда (*Bombycidae*) и медоносную пчелу (отряд *Hymenoptera*) и не активировал у них собственную латентную инфекцию [8, 12].

Таким образом, вирусы гранулезов обладают достаточно высокой специфичностью.

Вирусы ядерного полиэдроза близких видов — *Lambdina fiscellaria fiscellaria*, *L. f. lugubrosa* и *L. f. somniaria* — были одинаково инфекционны для гусениц III возраста *L. f. fiscellaria* [23].

Испытывалось шесть серийных концентраций полиэдров от 10^2 до 10^7 /мл. В соответствующие суспензии полиэдров погружались листья канадской пихты и скормливались гусеницам в течение 5 дней, после чего корм заменялся на свежий. В контрольных вариантах опыта гибели гусениц не наблюдалось, а при инфицировании гусениц *L. f. fiscellaria* гибель варьировала от 6,4 до 100%, повышаясь с увеличением концентрации полиэдров (табл. 10).

Таблица 10
Перекрестное заражение гусениц *Lambdina fiscellaria fiscellaria* ядерными полиэдрами близких видов [23]

Вирус	Концентрация вирусной суспензии	Насекомос-хозяин	Средний процент смертности
<i>L. f. fiscellaria</i>	10^2 /мл	<i>Lambdina fiscellaria fiscellaria</i>	6,4
<i>L. f. somniaria</i>			16
<i>L. f. lugubrosa</i>	10^4 /мл	<i>L. f. fiscellaria</i>	22,6
<i>L. f. fiscellaria</i>			10,5
<i>L. f. somniaria</i>			40,3
<i>L. f. lugubrosa</i>			43,3
<i>L. f. fiscellaria</i>	10^7 /мл	<i>L. f. fiscellaria</i>	95,3
<i>L. f. somniaria</i>			100
<i>L. f. lugubrosa</i>			100

Автор считает, что три вида этих личинок: *L. fiscellaria fiscellaria*, *L. f. somniaria* и *L. f. lugubrosa* — поражаются одним и тем же вирусом. LC_{50} вируса для них была близкой и выражалась следующими дозами полиэдров: $10^{4,8}$ /мл, $10^{3,3}$ /мл и $10^{3,6}$ /мл соответственно.

Имеется сообщение [35] о восприимчивости других подвигов этого вида к вирусам *L. f. somniaria* и *L. f. lugubrosa*. Ядерный полиэдроз известен у восьми видов рода *Malacosoma* (Lepidoptera, Lasocampidae). Вирусы *Malacosoma neustria* и *M. alpicola* распространены в европейских популяциях, а вирусы *M. disstria*, *M. americanum*, *M. pluviale*, *M. fragile*, *M. californicum* и *M. constictum* — в Северной Америке.

Известно, что североамериканские виды полиэдроза могут перекрестно инфицировать своих хозяев. Используя это свойство, Кларк и Томпсон [21] применили в полевых условиях вирус полиэдроза *M. californica* для борьбы с *M. fragile*.

Патогенность разных видов полиэдрозов *Malacosoma* при перекрестных заражениях может варьировать. Так, в опытах Стейрс [44] гусеницы *M. disstria* были чувствительны к вирусам *M. americanum*, *M. pluviale*, *M. alpicola* и *M. disstria* [41]. Однако LC_{50} для трех нативных видов вирусов была одинаковой и составляла 10^5 полиэдров на 1 мл, в то время как LC_{50} европейского вида — 10^8 полиэдров на 1 мл. Это указывает на то, что нативные вирусы были в 1000 раз вирулентнее, чем вирус из Европы. Данные о более медленном развитии вируса *M. alpicola* по сравнению с нативными вирусами сообщались также Смирновым [39].

Интересные наблюдения провел Смирнов [40] по перекрестному заражению ядерным полиэдрозом *Operophtera bruceata* (Lepidoptera: Geometridae) и *Erannis tiliaria*, которые в природных условиях питались на одних и тех же посадках клена. В лабораторных условиях вирус ядерного полиэдроза *Erannis tiliaria* был не инфекционен для гусениц *Operophtera bruceata* и вызывал очень низкий процент гибели своего собственного хозяина. Таким образом, общее кормовое растение и близкий метаболизм насекомых не влияли на чувствительность гусениц к чужеродному вирусу.

По данным Швецово [16], к полиэдрозу большой вошинной моли — *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Galleridae) были нечувствительны гусеницы того же отряда, но других семейств: непарный шелкопряд — *Porthetria dispar* (сем. Lymantriidae), кольчатый шелкопряд — *Malacosoma neustria* (сем. Lasiocampidae), златогузка-боярышница — *Euproctis chrysorrhoea* (сем. Lymantidae), яблонная моль — *Carpocapsa pomonella* (сем. Olethreutidae), американская белая бабочка — *Hyphantria cunea* (сем. Arctiidae).

Восприимчивыми к вирусу большой вошинной моли оказались гусеницы крапивницы — *Vanessa urticae* (Lepidoptera: Nymphalidae), хотя в организме этого насекомого образовывались полиэдры несколько измененной формы. Не исключено, что в этом случае у крапивницы под влиянием чужеродного вируса активировалась латентная форма собственного полиэдроза, тем более что полиэдры крапивницы не давали реакции агглю-

тинации с антисывороткой к полиэдрам вошинной моли. Гусеницы непарного шелкопряда — *P. dispar* (Lymantriidae) оказались невосприимчивыми к вирусам ядерных полиэдрозов кольчатого шелкопряда — *Malacosoma neustria* (Lasiocampidae), боярышницы — *Aporia crataegi* (Pieridae) и вошинной моли — *Galleria mellonella* (Galleridae), но слабо восприимчивыми к вирусу полиэдроза ивовой волнянки — *Stilpnotia salicis* (Lymantriidae) [7].

По данным Милосердовой и др. [6], вирус ядерного полиэдроза большой вошинной моли (*Galleria mellonella*) с успехом размножался в культивируемых *in vitro* клетках крови, овариальных трубочках и семенниковых цистах тутового шелкопряда.

Вирусы ядерных полиэдрозов капустной металлоидки *Trichoplusia ni* и *Autographa californica* давали перекрестное заражение. Вирус *A. californica* оказался в 4 раза патогеннее вируса *T. ni*. Следует отметить, что вирионы у *A. californica* расположены в полиэдрах пучками, а у *T. ni* — беспорядочно, по одному, хотя это обстоятельство может и не иметь никакого отношения к патогенности полиэдров *A. californica* [46]. Полиэдры *A. californica* были инфекционными также для гусениц *Pectinophora gossypiella*, что подтверждается наблюдениями в световом и электронном микроскопах [47]. Смирнов [41] показал отсутствие чувствительности у пяти видов гусениц Lepidoptera к полиэдрам и вирусным частицам *Pandemis lamprosana* (Lepidoptera: Tortricidae), относящимся к этому же семейству: *Christoneura fumiferana*, *Archips cerasivoranus*, *Archippus packardianus*, *Archips argyrospilus* и *Choristoneura rosaceana*. Заражение производилось большой дозой вируса как инъекцией в гемоцель, так и *per os*.

Этот же вирус *Pandemis lamprosana* не инфицировал гусениц других семейств Lepidoptera: *Malacosoma americanum*, *Stilpnotia salicis*, *Bombyx mori*, *Anagasta kuhniella*, *Hyalophora cecropia*, *Plodia interpunctella* [41].

Нами проводилось перекрестное заражение гусениц полиэдрами тутового (*Bombycidae*) и дубового (*Saturniidae*) шелкопрядов. Вирусы не давали ни перекрестного заражения, ни иммунитета к последующему инфицированию собственным вирусом. Хотя свойства полиэдров тутового и дубового шелкопрядов очень сходны, их морфология резко различна и позволяет легко ставить диагноз причины гибели гусениц [11].

Гершензон [3] провел обширные опыты по перекрестному заражению различных видов насекомых. Исследования позволили прийти автору к выводу о том, что специфичность полиэдрозов невысока.

Гусеницы американской белой бабочки (Arctiidae) не были восприимчивыми к полиэдрозу тутового шелкопряда (*Bombycidae*), непарного шелкопряда и ивовой волнянки (Lymantriidae) [49].

Симонова [9] изучала специфичность вирусов ядерного полиэдра пядениц-шелкопрядов: серой волосистой (*Phigalia pedaria*), желтоусой (*Biston hispidaria*), бурополосой (*Biston hirtaria*). Для заражения насекомых использовались суспензии полиэдров с титром $5,4 \times 10^7$ в 1 мл. Полиэдры пядениц-шелкопрядов не были инфекционными для гусениц зеленой, дубовой (*Tortrix viridana*) и боярышниковой (*Cacoecia crataegana*) листоверток, гусениц ранневесенних совок (*Thaeniosampa incerta* и *T. pulvirulenta* Esp.), зимней пяденицы (*Operophtera brumata*), бересклетовой моли (*Hyalophora cognatella*).

Изучалась видовая специфичность вируса японской ореховой павлиноглазки — вредителя маньчжурского ореха в Приморском крае. К нему оказались восприимчивыми гусеницы павлиноглазки-дианы, свободной от собственного латентного вируса при заражении через корм. Гибель гусениц составляла 60—70% на шестые—девятые сутки после инфицирования [14]. Специфичность ядерных полиэдров горностаевых молей изучалась Симоновой [10].

Первые серьезные серологические исследования вирусов насекомых были проведены Кривенчик и др. [29, 30]. Изучались серологические взаимоотношения ядерных полиэдров чешуекрылых (*Lepidoptera*), поражающих 11 видов насекомых, ядерных полиэдров перепончатокрылых (*Hymenoptera*) и гранул. Реакция связывания комплемента показала, что все три группы вирусных включений образуют три серологически отличных типа.

Вирусы *Hymenoptera*, изолированные из полиэдров рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer*), оказались серологически идентичными вирусам, изолированным из елового общественного пилильщика (*Diprion hercyniae*). Вирусы гранулезов листоверток (*Choristoneura murinana* и *Choristoneura fumiferana*) были идентичными, но вирус гранулеза *Recurvaria milleri* был серологически более родствен вирусам ядерных полиэдров, чем гранулезам листоверток. Степень родства между белками ядерных полиэдров разных видов насекомых варьировала и отражала филогенетические взаимоотношения насекомых-хозяев.

Серологическое исследование белков полиэдров и белков тканей насекомых-хозяев показало отсутствие серологического родства между ними. Серологическое родство было установлено между белками полиэдров тутового шелкопряда (*Bombycidae*) и большой пчелиной моли (*Galleridae*). Вирусные частицы и белок полиэдров этих двух видов насекомых оказались серологически родственными [1].

Айзава [17] в 10 последовательных пассажах удачно передал вирус ядерного полиэдра тутового шелкопряда (*Bombyx mori*) гусеницам *Galleria mellonella*. Полиэдры гексагональной формы изменялись, у *Galleria* образовывались чаще всего тетрагональ-

ные полиэдры, в редких случаях трехгранные. Антисыворотка, приготовленная к гемолимфе гусениц, инфицированных типичными полиэдрами тутового шелкопряда, давала положительную реакцию с тетрагональными полиэдрами *G.mellonella*. Таким образом, было доказано отсутствие активации собственной латентной инфекции у *Galleria*. Форму полиэдров в данном случае контролировал не вирус, а насекомое-хозяин.

Тщательные серологические исследования родства вирусов ядерных полиэдров из семейств нимфалид, лимантрид и вирусов гранулеза были проведены Канинхем [22]. Полиэдры и гранулы тщательно очищались дифференциальным центрифугированием и сахарозным градиентом, и из них изолировались вирусные частицы растворением полиэдров в 0,1 М Na_2CO_3 . Вирусные частицы осаждались при 35 000 g в течение 30 мин. Антисыворотки готовились иммунизацией кроликов вирусными частицами (1,5—2 мг вирусного белка на одного кролика). Сравнение вирусных частиц производилось в опытах по фиксации комплемента. Во всех опытах использовались антигены в концентрации 10—30 мкг вирусного белка на 1 мл. Параллельно производились измерения полиэдров в световом микроскопе, гранул и вирусных частиц — в электронном микроскопе.

Все вирусы нимфалид были серологически идентичными и показывали высокие титры связывания комплемента (1/2560) (табл. 11). Вирусы лимантрид показывали интересные взаимоотношения: вирусы *P. dispar* и *P. obfuscata* были серологически идентичными, а вирус *E. chrysorrhoea* (хозяин также отнесен к семейству волнянок) показывал очень слабое серологическое родство к этим двум вирусам и вирусам нимфалид. Серологически идентичными были гранулезы *P.brassicae*, *P.garae* и *P.napi*, но все они давали низкие титры связывания комплемента (1/160—1/320). Канинхем попытался провести корреляцию между родством изученных вирусов и размерами полиэдров, вирусных частиц и расположением вирионов в полиэдрах (пучками или по одному). Анализ показал, что такая корреляция отсутствует. Так, например, вирус златогузки (*E.chrysorrhoea*), который серологически резко отличался от всех испытанных вирусов, по размерам полиэдров занимал среднее положение между всеми испытанными полиэдромами, вирионы его были наиболее короткие по длине (300 нм), а располагались они в полиэдре пучками, подобно вирионам *P.dispar* и *P.obfuscata*. Эти исследования показали, что морфология полиэдров и вирусных частиц не лучший критерий в определении родства вирусов.

Воробьева и др. [2] исследовали серологическое родство разных штаммов полиэдров непарного шелкопряда, выделенных из разных очагов размножения вредителя в Амурской и Самаркандской областях, а также югославских штаммов «Сербия» и «Словения». Все испытанные штаммы ядерных полиэдров оказались идентичными.

Таблица 11

Серологические взаимоотношения вирусов различных семейств Lepidoptera (титры в реакции связывания компонента) [22]

Антисыворотки к вирусным частицам	Антигены (вирусные частицы)				
	A. urticae	N. io	E. chrysorrhoea	P. dispar	P. brassicae (гранулез)
A. urticae (Nymphalidae)	2560	2560	10	20	10
N. io (Nymphalidae)	2560	2560	20	10	10
E. chrysorrhoea (Lymantridae)	40	40	1280	20	10
P. dispar (Lymantridae)	40	40	40	1280	10
P. brassicae (Pieridae)	10	10	20	20	160

На серологическое родство между вирусами ядерных полиэдроз непарного шелкопряда (*Operia (Porthetria) dispar*), шелкопряда монашенки (*Operia monacha*), боярышницы (*Aporia strategiae*), побеговьюнка-смолевщика (*Evetria resinella*), капустной белянки (*Varathra brassica*) указывают Ходжиева и Гулий [13]. Первые два насекомых относятся к семейству волнянок (*Lymantriidae*), боярышница и капустная белянка — к семейству белянок (*Pieridae*), побеговьюнок-смолевщик — к семейству листоверток (*Tortricidae*). Янг и Джонсон [50] методом иммунодиффузии в геле нашли специфические растворимые антигены в жировом теле гусениц *Trichoplusia ni*, инфицированных вирусом ядерного полиэдроза. Линии преципитации появлялись на 2-й день после инфицирования и присутствовали в течение всего хода заболевания.

Таким образом, вирусы ядерных полиэдрозов менее специфичны, чем вирусы гранулезов, но обладают определенной групповой специфичностью.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВИРУСОВ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО ПОЛИЭДРОЗА

Вирусы цитоплазматического полиэдроза обладают меньшей специфичностью, чем вирусы ядерного полиэдроза и тем более гранулеза. Они гораздо легче поражают представителей других семейств. Так, Нейлсон [36] испытал вирус цитоплазматического полиэдроза *Operophtera brumata* (Lepidoptera: Geometridae) на 18 видах чешуекрылых и 2 видах перепончатокрылых разных семейств.

11 видов оказались чувствительными к вирусу. Смертность почти всех чувствительных видов достигала 75%. В двух случаях, где результат был отрицательным, заражение повторялось на более молодых гусеницах и с большей дозой вируса (*Cho-*

ristoneura fumiferana и *Hyphantria cunea*). Отрицательный результат снова повторился.

У чувствительных видов варьировал инкубационный период, процент общей смертности, но внешние симптомы заболевания почти не отличались. Полиэдры присутствовали только в клетках эпителия средней кишки, но не в других тканях. В табл. 12

Таблица 12

Восприимчивость различных насекомых к вирусу цитоплазматического полиэдроза зимней пяденицы (*Operophtera brumata*) [36]

Восприимчивы	Семейство	Невосприимчивы	Семейство
<i>Operophtera brumata</i>	Geometridae	<i>Archips cerasivoranus</i>	Tortricidae
<i>Alsophila pometaria</i>	Geometridae	<i>Coleophora fusidenella</i>	
<i>Erannis tiliaris</i>	Geometridae		
<i>Nymphalis antiposa</i>	Nymphalidae	<i>Choristoneura fumiferana</i>	Tortricidae
<i>Vanessa cardui</i>	Nymphalidae	<i>Euphydryas phaeton</i>	
<i>Operophtera bruceata</i>	Geometridae	<i>Hyphantria cunea</i>	Arctiidae
<i>Bombyx mori</i>	Bombycidae	<i>Stilpnotia salicis</i>	Lymantridae
<i>Malacosoma americanum</i>	Lasiocampidae	<i>Zeiraphera ratzeburgiana</i>	Tortricidae
<i>Pachyspinx modesta</i>			
<i>Paleacrita vernata</i>	Geometridae	<i>Diprion hercyniae</i>	Diprionidae
			(отряд Hymenoptera)
<i>Schizura concinna</i>		<i>Neodiprion nanulus</i>	Diprionidae

приводится перечень насекомых, чувствительных и не чувствительных к вирусу цитоплазматического полиэдроза *Operophtera brumata*.

Вирусы цитоплазматического полиэдроза луговой совки — *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) и североамериканской желтушки — *Colias philodice eurytheme* (Lepidoptera: Pieridae) давали перекрестное заражение. Вирус тутового шелкопряда (Lepidoptera: Bombycidae) был высоко инфекционен для гусениц *Colias*, но не для гусениц *Pseudaletia* [45].

Кривенчик и др. [31] изучили серологическое родство между вирусами цитоплазматических полиэдрозов *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae) и *Orgyia leucostigma* (Lepidoptera: Lymantriidae) и *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). Антигены (вирусные частицы) подвергались тщательной очистке ферментами и в сахарозном градиенте. Ставились тесты по фиксации комплемента, двойной диффузии в агаре и иммуноэлектро-

форезу. Эти исследования показали, что вирусы *Malacosoma disstria* и *Orgyia leucostigma* являются серологически близкородственными, но не идентичными. Вирус *Bombyx mori* имел слабое серологическое родство к этим двум вирусам и из пяти общих антигенных детерминант у первых двух вирусов имел с ними одну общую антигенную детерминанту в опытах по двойной диффузии в агаре и на мембранных фильтрах. Титр комплементфиксации при перекрестных реакциях между *M. disstria* и *O. leucostigma* составлял 1280—2560, в то время как при перекрестной реакции *B. mori* с этими вирусами — только 80 и 320.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ РАДУЖНЫХ ВИРУСОВ

Радужные вирусы обладают наименьшей специфичностью из всех изученных вирусов насекомых. Они поражают представителей различных отрядов насекомых: *Diptera*, *Lepidoptera*, *Coleoptera* (см. гл. I).

Смис с сотрудниками получили перекрестные заражения радужными вирусами *Tipula* 7 видов *Diptera*, 12 — *Lepidoptera* и трех видов *Coleoptera* [43]. Сообщалось о серологической идентичности радужных вирусов *Tipula paludosa* и *Pieris brassicae* [37].

Дэй и Мерцер [25] с помощью метода двойной диффузии в агаровый гель сравнивали вирусы *Tipula* и *Sericesthis*. Предварительно вирусы растворялись в щелочном растворе pH 10,5. Вирус *Tipula* давал три линии преципитации против гомологичной антисыворотки и одну — против антисыворотки к вирусу *Sericesthis*. Вирус *Sericesthis* давал три линии преципитации с гомологичной антисывороткой и две — против антисыворотки *Tipula*. Таким образом, эти вирусы имели по крайней мере один общий антиген.

Канинхем и Тинслей [24] изучили серологическое родство радужных вирусов *Tipula*, *Sericesthis*, *Pieris brassicae*, *Porthetria dispar*, *Galleria mellonella*. Использовались методы фиксации комплемента, диффузия в агаровом геле, преципитация в пробирках. Все три метода показали серологическую идентичность вирусов *Tipula* и *Sericesthis*. Вирусы *Tipula*, изолированные из *P. brassicae*, *P. dispar* и *G. mellonella*, были идентичны между собой, но их вирусные частицы отличались от вирусных частиц, изолированных из *Tipula paludosa*.

Радужный вирус *Sericesthis pruinosa* легко вызывал инфекцию у личинок *Anodontonyx migrolineatus*, *Anaplognatus* sp. и личинок комаров (*Aedes aegypti*), т. е. у насекомых, принадлежащих к различным отрядам; в этом он был сходен с вирусом *Tipula*. Попытки инфицировать радужным вирусом *Sericesthis* тараканов (*Periplaneta americana*, *Ctenolepisma longicandata*), пчелиную моль (*Galleria mellonella*), репную белянку (*Pieris rapae*) были безуспешными. Вирус *Sericesthis* инфицировал тутового шелкопряда (*Bombyx mori* D.), но только при инъекциях, но не per os.

Радужный вирус *Chilo suppressalis* скармливался или инъецировался в гемоцель гусеницам хлопкового долгоносика (*Anthonomus grandis*), и через 3—7 дней у них развивалась типичная голубая окраска тканей и наступала смерть гусениц [34].

Канюка [5] изучала видовую специфичность радужного вируса *Tipula*. Она инфицировала этим вирусом не только представителей класса насекомых из отрядов чешуекрылых (*Lepidoptera*), перепончатокрылых (*Hymenoptera*), жесткокрылых (*Coleoptera*) и двукрылых (*Diptera*), но и представителей других типов животного мира — червей дождевых, пиявок (тип *Annelida*), два вида моллюсков (тип *Mollusca*) и куриные эмбрионы (тип *Chordata*). Всем животным вирус вводился интралимфально (кроме медоносной пчелы, которой вирус скармливался вместе с сиропом) в дозах 0,01—0,4 мл суспензии.

Восприимчивыми к радужному вирусу оказались личинки непарного шелкопряда (*P. dispar*), большой пчелиной моли (*G. mellonella*), капустной белянки (*P. brassicae*), личинки и куколки тутового шелкопряда. Все перечисленные насекомые принадлежат к отряду чешуекрылых (*Lepidoptera*). Личинки восточного майского хруща — *Melolontha hippocastani* (отряд *Coleoptera*) также оказались восприимчивыми к вирусу *Tipula*.

В то же время другие насекомые из отряда чешуекрылых оказались невосприимчивыми к радужному вирусу *Tipula*: личинки и куколки кольчатого шелкопряда (*Mal. neustria*), куколки дубового китайского шелкопряда (*Antheraea pernyi*), личинки яблонной моли (*Hyponomeuta malinella*) и бересклетовой моли (*H. cognatella*), три вида насекомых из отряда *Coleoptera* (*Tenebrio molitor*, *Coccinella septempunctata* и *Galerucella viburni*), медоносная пчела (*Hymenoptera*), личинки домашней мухи и куколки тахин (*Hymenoptera*). Невосприимчивыми к радужному вирусу *Tipula* были и представители класса клещей (*Arachnoidea*), имаго — *Aganeus diadema* и *Hyalomma plumbeum* (отряд *Atanida*) и представители других типов животного мира — червей, моллюсков и хордовых.

У всех насекомых, чувствительных к радужному вирусу *Tipula*, симптомы и течение заболевания были сходными. Инкубационный период продолжался от недели до месяца и более и зависел от числа пассажей через несвойственного хозяина, от окружающей температуры, стадии развития насекомых. Из всех погибших насекомых был выделен типичный радужный вирус, дающий различные оттенки радужного свечения — от голубого, зеленого до фиолетового.

Радужным вирусом *Corethrella brakeleyi* не удавалось инфицировать личинок комаров *Aedes sollicitans*, *Aedes taeniorhynchus* и *Protophora ferox* I возраста. Наблюдения проводились вплоть до IV возраста. Кроме того, вирус *C. brakeleyi* скармливался самкам комара *Aedes taeniorhynchus* с кровяной мукой. Личинки,

вышедшие из этих яиц и наблюдавшиеся также до IV возраста, не обнаруживали признаков инфекции.

В то же время вирус *Corethrella brakeleyi* был инфекционным для личинок *Corethrella appendiculata* [20].

Холл и Лав [26] получили различные физические характеристики радужных вирусов комаров, дающих желтое (RMIV) и голубое (TMIV) свечение больных личинок при исследовании смеси этих вирусов в градиенте плотности хлористого цезия. Вирус RMIV был более плотным и занимал более низкое положение, чем вирус TMIV. При исследовании в электронном микроскопе его размеры оказались несколько крупнее ($195 \pm 4,5$ нм против $160 \pm 6,8$ для TMIV). Главные антигенные компоненты RMIV и TMIV были идентичными в реакциях иммунодиффузии в агаре (получено семь идентичных линий преципитации).

Калмаков с сотрудниками [28] сравнивали два радужных вируса из хрущей *Costelytra zealandica* (CzIV) и *Wiseana cervinata* (WIV), изолированных из больных насекомых в разных районах Новой Зеландии. Использовалась реакция преципитации в агаровом геле. Вирус CzIV серологически отличался от других радужных вирусов; вирус WIV был близок к вирусу *Tipula*. Вирусы очищались дифференциальным центрифугированием и в градиенте плотности сахарозы. Использовались растворы вирусов в 0,1 н. NaOH в концентрации 100 мг/мл.

В то время как серологическое родство выявилось между вирусом *Wiseana cervinata* и вирусом *Costelytra zealandica*, вирусами *Tipula* (изолированными из непарного шелкопряда и болотной долгоножки) и вирусами жука *Sericesthis pruinosa* (изолированного из *Galleria* и *Brassicae*), радужный вирус *Costelytra zealandica* не давал перекрестных реакций с перечисленными вирусными антигенами.

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДРУГИХ ВИРУСОВ

Мы располагаем гораздо меньшими сведениями о специфичности других групп вирусов. Вирусы оспы, которые открыты всего 10 лет назад, по-видимому, являются так же мало специфичными, как и радужные вирусы, так как, подобно последним, описаны у представителей самых разных отрядов насекомых (см. табл. 4), однако эксперименты перекрестных заражений этими вирусами пока почти отсутствуют.

Острым параличом пчел удалось инфицировать различные виды шмелей, но не ос, вошную моль, мучных хрущей и тараканов [18].

Чхубианишвили [15] показала восприимчивость гусениц сонового шелкопряда к вирусу дензонуклеоза *Galleria*. При подкожной инъекции паралич гусениц наступал на 14-й день после инфицирования. При заражении через корм (хвою, смоченную

суспензией вируса дензонуклеоза) заболевание проявлялось на 17-й день.

Вирус дензонуклеоза комаров *Aedes aegypti* не инфицировал гусениц кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria*), непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*) и большую вошную моль (*Galleria mellonella*). Вирус не оказывал также патогенного действия на куриные эмбрионы и белых мышей, что свидетельствовало о его специфичности в отношении насекомого-хозяина [1a].

Вирусы без включений, локализующиеся в цитоплазме средней кишки *Antheraea pernyi*, *Actias selene*, *Hyalophora cecropia* и гибрида *Phylosamia cynthia* × *ricini*, давали перекрестное заражение между собой [33].

Однако опыт осложнялся присутствием во всех случаях латентной инфекции в контрольных вариантах, которая вызывала гибель гусениц от 10—50% и перекрывала в некоторых случаях процент гибели гусениц в опытных вариантах. Все же выявлялись при этом более или менее патогенные вирусы. Так, вирус, изолированный из *P. cynthia* × *ricini*, вызывал 85% гибели гусениц *Hyalophora cecropia* против 50% гибели в контроле. Вирус, изолированный из *Antheraea pernyi*, вызывал 73% гибели гусениц *Hyalophora cecropia* при 1% гибели в контроле, а вирус *Actias selene* давал 70% гибели *H. cecropia* при 30% гибели в контроле. Из этих опытов неясно, происходило ли заражение или активация латентного вируса. Определенно можно сказать только, что гусеницы *Hyalophora cecropia* оказались наиболее чувствительными ко всем трем испытанным вирусам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров Ю. М. 1966. Микробиол. ж., 28, № 2, 73. Киев.
- 1a. Васильева В. Л., Лебединец Н. Н., Буцацкий Л. П., Чернявская Е. И. 1974. Тезисы докл. Первой Киевской город. конф. по патологии членистоногих и биол. средствам борьбы с вредными организмами. Киев.
2. Воробьева Н. Н., Гулий В. В., Ларионов Г. А. 1968. XIII Междунар. энто-мол. конгресс. Резюме докл. М.
3. Гершензон С. М. 1958. Микробиология, 24, 1, 90.
4. Дикасова Е. Т. 1969. Гранулез озимой совки и его применение для борьбы с этим вредителем. Ташкент, «ФАН».
5. Канюка В. Д. 1966. Допов. АН УРСР, № 6, 811.
6. Милосердова В. Д., Мосолов А. Н., Сирко Л. А. 1968. XIII Междунар. энто-мол. конгресс. Резюме докл. М.
7. Орловская Е. В. 1968. Защита леса, № 162, 11.
8. Рындовская Ю. Л. 1971. О двойной вирусной инфекции у американской белой бабочки, *Huphantria cunea* Drury. Автореф. канд. дисс. М.
9. Симонова А. Е. 1965. В сб. «Исследования по биологическому методу борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства», вып. 2, стр. 50. Новосибирск, «Наука».
10. Симонова Э. Ж. 1969. В сб. «Биол. метод борьбы с вредителями растений». Рига, «Зинатне».
11. Тарасевич Л. М. 1947. Микробиология, 18, 4, 323.
12. Тарасевич Л. М., Рындовская Ю. Л., Бескина С. Р., Минкевич Н. И. 1973. Докл. ВАСХНИЛ, № 8, 37.

13. Ходжиева Т. М., Гулий В. В. 1971. Сибирский вестн. с. х. науки, № 6, 43.
14. Челышева Л. П. 1971. В сб. «Защита леса от вредных насекомых и болезней», 1, 177.
15. Чхубианишвили Ц. А. 1971. Там же, стр. 180.
16. Швецова О. И. 1961. Докл. АН СССР, 139, 2, 481.
17. Aizawa K. 1962. J. Insect Pathol., 4, 1, 122.
18. Bailey L., Gibbs A. J., Woods R. D. 1964. Virology, 23, 425.
19. Biliotti E. 1955. Rev. pathol. végétale et entamol. Agr. France, 38, 149.
20. Chapman H. C., Clark T. B., Anthony S. W., Glenn F. E. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 2, 284.
21. Clark E. C., Thompson C. G. 1954. J. Econ. Entomol., 47, 268.
22. Cunningham J. C. 1968. J. Invert. Pathol., 11, 196.
23. Cunningham J. C. 1970. Canad. Entomol., 102, 12, 1534.
24. Cunningham J. C., Tinsley T. W. 1968. J. Gen. Virol., 31, 18.
25. Day M. F., Mercer E. H. 1964. Austral. J. Biol. Sci., 17, 4, 892.
26. Hall D. W., Lowe R. E. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 3, 317.
27. Hunter D. K., Hoffman D. F. 1972. J. Invert. Pathol., 20, 1, 4.
28. Kalmakoff J., Moore S., Pattinger R. P. 1972. J. Invert. Pathol., 20, 1, 70.
29. Krywienzyk J., MacGregor D. R., Bergold G. H. 1958. Virology, 5, 476.
30. Krywienzyk J., Bergold G. H. 1960. J. Immunol., 84, 4, 404.
31. Krywienzyk J., Hayashi I., Bird F. T. 1969. J. Invert. Pathol., 13, 144.
32. Lipa J., Ziemnicka J. 1971. Acta Microbiol. Polon., ser. B., 3(20), 3, 155.
33. Longworth J. F., Harrap K. A. 1968. J. Invert. Pathol., 10, 139.
34. Mc Laughlin R. E., Scott H. A., Bell M. R. 1972. J. Invert. Pathol., 19, 3, 285.
35. Morris O. N. 1964. Canad. J. Microbiol., 10, 2, 273.
36. Neilson M. M. 1964. J. Insect Pathol., 6, 1, 41.
37. Oliveria A. K., Ponsen M. B. 1966. Netherl. J. Plant Pathol., 72, 5, 259.
38. Smirnof W. A. 1963. J. Insect Pathol., 5, 104.
39. Smirnof W. A. 1954. J. Insect Pathol., 6, 384.
40. Smirnof W. A. 1964. J. Insect Pathol., 6, 4, 537.
41. Smirnof W. A. 1966. Canad. J. Microbiol., 12, 1076.
42. Smith K. M., Rivers C. F. 1956. Parasitology, 46, 235.
43. Smith K. M., Rivers C. F., Hills G. F. 1961. Virology, 13, 233.
44. Stairs G. R. 1964. J. Insect Pathol., 6, 2, 164.
45. Tanada J., Chang G. Y. 1960. J. Insect Pathol., 2, 3, 201.
46. Vail P. V., Sutter G., Jay D. L., Gough D. 1971. J. Invert. Pathol., 8, 25.
47. Vail P. V., Hunter D. K., Staten R. T. 1972. J. Invert. Pathol., 20, 1, 124.
48. Wasser H. B., Steinhaus E. 1951. Virginia Journal of Science, 11, 2, 91.
49. Weiser J., Veber J. 1954. Folia Zool. et Entomol., 3, 1, 55.
50. Young S. Y., Johnson D. R. 1972. J. Invert. Pathol., 20, 114.

Глава пятая

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ НАСЕКОМЫХ

Насекомые принадлежат к пойкилотермным животным, и температура их тела одинакова с температурой окружающей среды. Естественно поэтому, какое огромное влияние должны оказывать и оказывают условия внешней среды на физиологическое состояние насекомых. С другой стороны, вирусы являются облигатными паразитами и развиваются в теснейшем контакте с организмом насекомого. Поэтому при вирусной инфекции насекомых все факторы внешней среды действуют на вирус односторонне через организм, влияя на метаболизм насекомого, что в свою очередь ведет к изменению условий размножения вируса.

При использовании вирусов насекомых в качестве агентов биологической борьбы, при нанесении вирусных препаратов (кристаллических включений вируса) на кормовые растения вредителей, вирусы также становятся непосредственными объектами факторов внешней среды (температуры, влажности, солнечной радиации, света и пр.). Необходимо поэтому знать степень воздействия этих факторов на сам вирус.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ НАСЕКОМЫХ

Существует несколько критериев для оценки влияния различных факторов внешней среды на вирусную инфекцию насекомых.

Общим выражением влияния того, или иного фактора служат прежде всего изменения в количестве погибших гусениц, продолжительность инкубационного периода, среднее число дней до начала гибели гусениц, количество вируса, накапливающегося на единицу живого веса гусениц. По общему признанию, наиболее мощным внешним фактором, влияющим на течение вирусной инфекции, является температура окружающей среды.

Имеются многочисленные литературные данные, показывающие изменения в ходе вирусного заболевания при изменении температуры режима для насекомого-хозяина как в сторону повышения, так и в сторону ее понижения. Как облигатные паразиты, вирусы лучше развиваются в условиях, близких к оптимальным для своего хозяина. Кроме влияния на инокулируемую инфекцию,

температура является также мощным фактором, активирующим латентные инфекции у насекомых (см. гл. VII).

Тутовый шелкопряд — полезное насекомое, производящее натуральный шелк, — явился объектом большого числа работ, рассматривающих влияние температуры на вирусное заболевание гусениц тутового шелкопряда [1, 3, 5]. Повышение температуры увеличивает чувствительность гусениц к заболеванию «желтухой» (ядерным полиэдрозом). Поскольку гусеницы выращиваются в специальных червоводнях, оптимальная температура может контролироваться и служить уменьшению потерь от вирусных болезней на выкормках.

Повышение температуры способствует более быстрому развитию вирусной инфекции острого паралича пчел — другого полезного насекомого [15, 16].

Приведем примеры влияния температуры на вирусные инфекции вредных насекомых.

В природных условиях низкие среднесуточные температуры ($+10^{\circ}$) значительно задерживали инкубационный период ядерного полиэдроза у американской белой бабочки (*Hyphantria cunea*) при обработке гусениц вредителя суспензией полиэдров в концентрации 10^7 — 10^9 мл в Закарпатье [7]. Увеличение смертности гусениц от гранулеза наблюдалось при более высокой температуре содержания гусениц [11].

У гусениц серой зерновой совки (*Hodena sordida*) максимальная гибель от гранулеза наблюдалась при 20° , а при 6 — 8° она составляла лишь 4,5—5,2% [29]. При гранулезе озимой совки (*Agrotis segetum*) с повышением температуры окружающей среды инкубационный период заболевания значительно сокращается. Так, при 17 — 22° гусеницы I возраста погибали через 6 суток, при 18 — 23° — через 4—5 суток, при 19 — 24° — через 3 суток. У гусениц старших возрастов влияние повышенной температуры на инкубационный период болезни оказывался не столь значительным [6].

У рыжего соснового пилильщика (*Diprion sertifer*) при 24° инкубационный период ядерного полиэдроза кишечника продолжается 4,5 дня, а при 12° его продолжительность увеличивается до 19 дней [63]. Однозначные результаты получены Кригом [49].

Повышение температуры ускоряло гибель гусениц *Lambdina fiscellaria fiscellaria* от ядерного полиэдроза. Так, среднее время до гибели гусениц при 15° составляло 31 день, при 20° —24, а при 25° —16 дней. При 30° гусеницы погибали уже не от вирусной инфекции, а от физиологических причин [40].

При культивировании гусениц пилильщика I—IV возрастов (*Neodiprion swainei*) в лабораторных и природных условиях вирус был максимально эффективен при средней оптимальной температуре развития насекомого-хозяина 15 — 20° . При 12° и низкой дозе вируса (1×10^6 пол/мл) инкубационный период составил 69 дней, а смертность гусениц — 31% [55].

Низкую смертность гусениц при опрыскивании суспензией полиэдров в природных условиях Канады в 1964 и 1965 гг. Смирнов [54] объясняет исключительно низкими летними температурами. При нормальной температуре лета этот же вирус давал высокий процент смертности гусениц.

Гибель гусениц *Lambdina fiscellaria lugubrosa* от ядерного полиэдроза наблюдалась наиболее интенсивно при оптимальной температуре выращивания гусениц (21°), но не при 28° [52]. При 21° смертность гусениц была 78—94%, при 28° — 52—63%. При $11,5^{\circ}$ инкубационный период продолжается 19—43 дня, при 21° — 0—21 день, при 28° — 8—11 дней. Таким образом, изменение температуры резче влияло на динамику заболевания, чем на общий процент смертности гусениц.

Подавляющий эффект низких температур на развитие вирусной инфекции наблюдался и при полиэдрозе рыжего соснового пилильщика [37], капустной металлоидки и хлопковой совки [62], при гранулезе репной белянки [58, 59], при заболевании *Galleria*, вызванном радужным вирусом *Tipula* [61].

Таким образом, можно определенно говорить об ускоряющем действии повышенных температур на течение вирусной инфекции у насекомых и о замедляющем действии пониженных температур.

На основании закономерностей между изменением температуры и продолжительностью инкубационного периода заболевания можно до определенной степени прогнозировать развитие эпизоотий в природных условиях.

Влияние изменений влажности в окружающей среде, по-видимому, не столь существенно для инфекционного процесса. Принято считать, что повышенная влажность способствует активации инфекционного процесса [9]. В условиях засушливого лета водный баланс у хвойной волнянки (*Dasychira abietis*) нарушался, и у гусениц наблюдались отклонения в патологической картине заболевания полиэдрозом, которые выражались в укорачивании и подсыхании тела гусениц вместо обычного при полиэдрозе лизиса тканей [4]. Не исключено, однако, что в этом случае присутствовал еще какой-либо вирус, нарушающий обычную картину заболевания.

Смирнов [55] изучал влияние света и темноты на течение вирусной инфекции у *Neodiprion swainei*. Это насекомое обладает выраженным гелиотропизмом и поэтому является удобной моделью для таких экспериментов. Инсектарий пропускал дневной свет, но не прямые солнечные лучи. Каждая серия опытов включала три варианта: искусственное заражение гусениц, гусениц с собственной вирусной инфекцией и гусениц, свободных от вируса. Гусеницы II возраста, выращенные в полной темноте или на дневном свете, получали с кормом водную суспензию полиэдров в концентрации 1×10^8 полиэдров мл. Наблюдалась 100%-ная гибель гусениц и в темноте, и на свету, однако на све-

ту гусеницы погибали на 6 дней раньше, чем в темноте. Гусеницы без искусственного заражения погибали от своего вируса также на 9 дней раньше на свету, чем в темноте.

Таким образом, вирусная инфекция в условиях дневного освещения протекала значительно быстрее, чем в темноте. До II возраста гусеницы в темноте развивались нормально, но в последующих возрастах развитие гусениц в темноте было замедленным, коконы значительно мельче и их образование задерживалось на 6—14 дней.

По-видимому, отсутствие света оказывало неблагоприятное влияние на метаболизм и физиологию гусениц, а не на сам вирус.

Влияние различного рода радиации на течение вирусной инфекции у насекомых изучено меньше, чем влияние непосредственно на вирусные включения, о чем речь будет идти ниже. С УФ-радиацией насекомые сталкиваются в природных условиях, и знать о действии УФ-лучей на инфицированных вирусами насекомых совершенно необходимо для практики биометода.

Изучалось действие лучей Рентгена (X-лучей) на активацию ядерного полиедроза у тутового шелкопряда [10]. Изучалось стимулирующее действие определенных доз X-радиаций на увеличение качества антигена полиэдров в яйцах тутового шелкопряда при их хранении [21]. Действие γ -радиации активировало полиэдроз у гусениц американской белой бабочки [22].

Аруга и др. [35, 36] не получили активации ядерного полиедроза у тутового шелкопряда под влиянием X- и УФ-радиации. Более того, Джеффри [45] нашел, что у гусениц тутового шелкопряда, облученных летальными и сублетальными дозами X-лучей, уменьшалась восприимчивость к вирусу ядерного полиедроза. Такие же дозы подавляли развитие вируса дензонуклеоза в гусеницах *Galleria mellonella* [46]. При облучении гусениц американского кольчатого шелкопряда (*Malacosoma americanum*), инфицированного ядерным полиэдрозом, γ -лучами смертность гусениц значительно ускорялась при получении ими дозы 10 000 и 50 000 рад. Гусеницы погибали от полиедроза на 11—12-й день, а необлученные инфицированные гусеницы — только через 14—16 дней. Доза 100 000 рад. вызывала одинаковую смертность облученных и необлученных гусениц после 10—12 дней, а 300 000 рад. — после 48 час. Таким образом, развитие вируса ускорялось при облучении гусениц низкими дозами γ -лучей [55].

Джеффри и Чаудри [46] наблюдали гистологические изменения у гусениц *Galleria*, инфицированных вирусом *Tirula*, под действием γ -радиации. Доза 5 килорад вызывала в большей части тканей вакуолизацию цитоплазмы и ядра. У гусениц, получавших 10 килорад, размножение вируса в тканях обнаруживалось только на вторую неделю. При дозе 20 и 50 килорад уже к концу первой недели можно было наблюдать вирусные частицы в этих же тканях.

Таким образом, действие излучений на инфицированных вирусом насекомых определяется главным образом дозой излучения и может в одних случаях стимулировать, а в других подавлять вирусную инфекцию.

Влияние ультразвуковых и звуковых колебаний на яйца тутового шелкопряда, инфицированные вирусом ядерного полиедроза, изучались Ованесян с сотрудниками [13]. Оказалось, что соответствующими дозами звуковых и ультразвуковых колебаний можно подавить вирусную инфекцию в грене (яйцах) насекомого.

Общепризнано, что фактор питания оказывает значительное влияние на вирусные инфекции насекомых, вмешиваясь в их метаболизм. Этот раздел исследований очень обширен и в настоящее время приобрел большое практическое значение, так как непосредственно связан с подбором оптимальных синтетических и полусинтетических сред для выращивания вредных насекомых. Нам не представляется возможным осветить всю имеющуюся литературу по данному разделу, и мы ограничимся лишь отдельными примерами.

По данным Айзава и Фурута [32], вирус цитоплазматического полиедроза нормально размножается в голодающих гусеницах тутового шелкопряда и количество вируса в инфицированной гемолимфе такое же, как и у нормально питавшихся гусениц. Многие исследователи отмечали влияние пищевого фактора на течение вирусной инфекции [30, 36].

Дикасова [6] наблюдала различное поражение гусениц озимой совки гранулезом в природе в зависимости от кормового растения. Так, в почве под сочными молодыми растениями клевера, лебеды и редьки встречаются единичные гусеницы, пораженные гранулезом. На тех же полях, где встречались пожелтевшие старые растения вьюнка и капусты, число пораженных гусениц было 30% и выше.

В лабораторных условиях зависимость появления спонтанного гранулеза от качества кормовых растений проявлялась еще резче, чем в поле.

Гусеницы младших возрастов непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*) оказались более восприимчивыми к ядерному полиедрозу при питании их более зрелыми листьями дуба [26]. При питании этого же насекомого и капустной совки менее предпочитаемыми кормовыми растениями в теле насекомых накапливалось больше полиэдров, чем при питании обычным, свойственным этим насекомым кормом [14].

Изменение соотношения в корме личинок вошинной моли азота и углеводов значительно влияло на чувствительность гусениц к ядерному полиедрозу [28]. Очень много работ посвящено влиянию качества корма на ядерный полиэдроз тутового шелкопряда [2, 12, 64, 65], что и понятно, так как полиэдроз значительно снижает урожай шелковичных коконов.

Многие исследователи пришли к выводу о том, что несвойственная данному насекомому пища или изменение соотношения основных элементов пищи приводит к увеличению чувствительности гусениц к вирусной инфекции.

С другой стороны, имеется серия работ, в которых показано отсутствие влияния пищевого фактора на вирусную инфекцию. Так, например, в наших опытах с гусеницами американской белой бабочки (*Hyrphantria cunea*) различные кормовые растения (более или менее предпочитаемые) не влияли на накопление полиэдров и гранул [23]. Хотя выход сырой массы гусениц различался на разных кормовых растениях, выход очищенных полиэдров и гранул был одинаковым.

Обогащенная в 3 раза дрожжами против обычной диета для личинок комаров *Aedes taeniorhynchus* почти не отражалась на степени их инфицирования радужным вирусом. Так, на обогащенной диете смертность личинок от вирусного заболевания составила 4,2% против 3,4% в контроле в I генерации и 5,4% против 6,0% соответственно во II генерации [50].

Нами сравнивалось течение инфекционного процесса у гусениц непарного шелкопряда II—III возрастов на естественном корме (листья дуба) и искусственном корме (среда, рекомендованная С. С. Ижевским). Мы не нашли разницы в развитии инфекции. Инкубационный период был одинаковым (10—12 дней) с пиком на 12-й день, динамика заболевания сходная, так же как и количество накопившихся полиэдров в расчете на единицу живого веса гусениц.

Смена жабрея (*Linaria vulgaris*), обычной пищи для гусениц *Calophasia lunula*, на *Antirrhinum majus* не изменяла процент гибели гусениц от ядерного полиэдроза, но значительно увеличивала число случаев гибели гусениц от цитоплазматического полиэдроза, который обычно поражает среднелинечный эпителий этих гусениц и вызывает мягкую инфекцию.

Таким образом, мы встречаемся с противоречивыми данными в отношении влияния пищевого фактора на инфекционный процесс у гусениц. По-видимому, это объясняется разными причинами. Важную роль здесь играет физиология и метаболизм самого насекомого-хозяина. Так, например, американская белая бабочка (*Lepidoptera: Arctiidae*) имеет очень широкий круг кормовых растений [27] и, следовательно, менее выраженную специфику пищевого обмена; возможно, что вследствие этого развитие инфекции идет с одинаковой интенсивностью на разных кормовых растениях [23].

Противоречивые данные могут быть результатом того, что многие исследователи не дифференцируют в своих работах влияние пищевого фактора на инокулируемую и латентную инфекции [24].

Процент гибели гусениц от активированной латентной инфекции насекомого может перекрывать процент гибели от ино-

кулируемой инфекции, поэтому эксперименты должны проводиться на небольшом фоне спонтанного заболевания в контролях или на личинках насекомых, свободных от вируса, или в тканевой культуре.

Наконец, разные методы инфицирования гусениц, разные способы титрования и учета результатов экспериментов могут также приводить к противоречивым выводам.

Влияние различных химических соединений на течение вирусных инфекций насекомых изучалось на тутовом шелкопряде в целях подавления ядерного полиэдроза у этого хозяйственно-полезного насекомого. Испытывались самые разнообразные соединения [1, 5, 12, 17].

Нами проводились широкие испытания влияния метаболитов и антиметаболитов нуклеинового обмена на ядерный полиэдроз тутового шелкопряда как в лабораторных условиях, так и в условиях производственных выкормок. Значительное уменьшение процента смертности гусениц было достигнуто под влиянием метаболитов нуклеинового обмена — фолиевой и *n*-аминобензойной кислот. Эти соединения действовали самым благоприятным образом на организм гусениц, ускоряя их развитие и рост, улучшая состав крови, повышая количество нуклеопротеидной фракции гусениц, содержание ДНК. В конечном итоге сопротивляемость насекомых к вирусной инфекции повышалась, и процент гибели гусениц тутового шелкопряда снижался. При этом значительно повышался общий урожай коконов и процент сортовых коконов [19, 20].

Антиметаболиты нуклеинового обмена гусениц (аминоптерин, 2, 6-диаминопурин, стрептоцид) действовали противоположным образом на гусениц и полиэдроз.

Витамин B₁₂ и соли Со, которые испытывались Карповым [10] на гусеницах тутового шелкопряда, также снижали процент гибели гусениц от полиэдроза.

В свете биометода большой интерес приобретают стимуляторы размножения вирусов, вызывающие болезни вредных насекомых. Таким соединением в наших исследованиях была глутаминовая кислота, угнетающая в определенных дозах рост и развитие гусениц, но значительно увеличивающая выход полиэдров на единицу веса гусениц [19].

В многочисленных работах Ямафуджи с сотрудниками [66] испытывалось влияние различных соединений (гидроксиламин, нитраты, оксимы и др.) на вирусное заболевание полиэдрозом тутового шелкопряда, но целью этих исследований было доказательство возникновения вируса *de novo* в организме тутового шелкопряда. Эти работы в свое время подвергались критике как за рубежом, так и в нашей стране [56, 8], и эксперименты показали, что все эти соединения на гусеницах, свободных от латентного полиэдроза, не дают «возникновения» заболевания, а в случае наличия у гусениц латентного вируса активируют его.

К сожалению, в настоящее время работы со стимуляторами размножения вирусов нигде не проводятся. В лаборатории Айзава [33] было показано, что человеческая сыворотка, экстракты гемолизированных эритроцитов барана, гемоглобина и хлопрофиллина способствуют вирусной инфекции тутового шелкопряда, оказывая защитное действие на вирус. Однако механизм этого действия не ясен. Защищают ли они свободный вирус от инактивации в теле насекомого или способствуют адсорбции и инвазии вируса в клетки хозяина? Защитное действие на вирус этих веществ снимается KCN и NaN_3 .

Как уже говорилось выше, физиологическое состояние насекомых играет огромную роль в их чувствительности к вирусной инфекции. При этом наиболее ярким проявлением данного положения является возрастная восприимчивость гусениц.

Некоторое время считали, что наиболее чувствительны к вирусной инфекции гусеницы старших возрастов. Такой вывод был сделан на основании наблюдений за эпизоотиями ядерного полиэдроза («желтухи») на выкормках тутового шелкопряда, где расцвет эпизоотии имеет место обычно в конце V возраста перед завивкой коконов. По мере развития исследований по вирусам насекомых стало ясно, что гусеницы младших возрастов более восприимчивы к вирусной инфекции, чем гусеницы старших возрастов.

У гусениц тутового шелкопряда вспышки эпизоотий в конце V возраста объясняются как постепенным накоплением (пасивированием) инфекции в процессе выкормки, так и активацией латентной инфекции.

Можно привести много примеров, показывающих большую восприимчивость гусениц младших возрастов. Хотелось бы заметить здесь, что в сравнительных экспериментах по возрастной чувствительности гусениц к инфекции необходимо относить последнюю к живому весу гусениц, так как с возрастом гусеницы во много раз увеличивают свой вес, т. е. массу тела, и одно и то же количество инокулируемого вируса будет как бы «разбавляться» массой тела у гусениц старших возрастов. Без учета живого веса гусениц может быть сделан неверный вывод о меньшей чувствительности гусениц старших возрастов.

Повышение устойчивости гусениц к вирусной инфекции с возрастом наблюдалось у хлопковой совки (*Heliothis zea*) [60], луговой совки (*Pseudaletia unipuncta*) [59], лесной шатровой гусеницы (*Malacosoma disstria*) [57], западной дубовой пяденицы (*Lambdina fiscellaria somnaria*) [51].

Гусеницы металлоидки (*Trichophusia ni*) I возраста были чувствительны к вирусу ядерного полиэдроза при всех испытанных температурных режимах (25—30°, смертность 100%). Гусеницы II возраста погибали в 100% случаев только при 30° [39].

У комаров наиболее чувствительными к инфекции радужным вирусом являются личинки младших возрастов (I, II),

хотя явные симптомы инфекции чаще появляются в IV возрасте [50].

У тутового шелкопряда инкубационный период ядерного полиэдроза у личинок I—II возраста продолжается 5—6 дней, у личинок старших возрастов — 7—8 дней.

У *Lambdina fiscellaria fiscellaria* чувствительность гусениц разных возрастов (II, III, IV) к одной и той же концентрации гомологичного вируса оказалась одинаковой для всех испытанных возрастов и пропорциональной концентрации вируса. Так, при концентрации вируса 10^7 пол/мл смертность гусениц II, III и IV возрастов составила 100—96,9%, при концентрации 10^6 пол/мл — 44—31,4%, при концентрации 10^5 пол/мл — 0—6,4%. Среднее время до гибели также было сходным для всех трех возрастов и составляло 15—26 дней [40].

Только различиями в методах исследования можно объяснить разноречивые результаты экспериментов по возрастной чувствительности гусениц к вирусной инфекции.

Мы очень мало знаем об иммунитете насекомых к вирусной инфекции. Известно, что у насекомых основной формой иммунитета является фагоцитарный иммунитет [15]. При вирусных заболеваниях тутового и дубового шелкопрядов были показаны изменения в формуле крови [12, 18] и биохимические изменения в клетках крови [20].

В лаборатории Айзава [31] в инфицированной вирусом гемолимфе тутового шелкопряда было найдено антивирусное вещество. Инфицированная гемолимфа центрифугировалась при 27 000 об/мин 60 мин. или при 40 000 об/мин 2 часа, и надосадочная жидкость фракционировалась сернокислым аммонием с насыщением 33, 50 и 80%. Растворы диализовались против фосфатного буфера и смешивались затем с вирусом. Инактивация вируса была наиболее значительной во фракции с 33%-ным насыщением. В здоровой гемолимфе этот инактивирующий агент отсутствовал.

Антивирусный агент почти разрушался нагреванием при 56° в течение 30 мин., но был устойчив против обработки трипсином или йодной кислотой.

Интересно, что антивирусное вещество из гемолимфы тутового шелкопряда было эффективным также против вируса ядерного полиэдроза большой воцинной моли (*Galleria mellonella*) [34].

Мы привели в этой главе лишь основные факторы, влияющие тем или иным образом на вирусную инфекцию насекомых. Однако мы почти ничего не знаем об интегрированном влиянии на вирусную инфекцию одновременно двух и более факторов, которые обычно действуют в природных условиях и в живом организме. Накопление фактов и применение компьютеров позволят в будущем справиться с этими проблемами.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА ВИРУСНЫЕ ВКЛЮЧЕНИЯ НАСЕКОМЫХ

Исследователи вирусов насекомых давно обращали внимание на необычайную устойчивость полиэдров тутового шелкопряда к различным воздействиям. Полиэдры не растворялись в воде, органических растворителях, не загнивали при продолжительном хранении, не окрашивались обычными гистологическими красителями. Эти наблюдения были в дальнейшем подтверждены и расширены многочисленными исследованиями и будут специально рассмотрены в главе X. Эти свойства вирусных включений и позволили использовать вирусы насекомых для биологической борьбы с вредными насекомыми. Как известно, применение в практике биометода нашли пока вирусы из рода *Baculovirus*, образующие полиэдры и гранулы и вызывающие вирусные заболевания — полиэдрозы и гранулезы. Белковый матрикс полиэдров и гранул хорошо защищает вирионы и их инфекционную нуклеиновую кислоту от быстрой инактивации под влиянием факторов внешней среды и способствует достаточно длительному сохранению их в природе.

Рассмотрим прежде всего, как долго могут сохраняться инфекционные свойства полиэдров и гранул в условиях лабораторного хранения. Такое хранение необходимо как для исследовательских работ, так и для последующего применения вирусов в природных условиях. В разных лабораториях обычно сохраняют полиэдры и гранулы в холодильнике или в виде суспензии в 50%-ном глицерине, или в виде сухого порошка очищенных полиэдров, или в виде трупов погибших гусениц. При таком хранении инфекционность полиэдров и гранул обычно сохраняется в течение нескольких лет.

Нейлсон и Илги [53] изучили вирулентность ядерных полиэдров кишечника елового пилильщика (*Diprion hercyniae*) в зависимости от срока их хранения. Полиэдры сохраняли вирулентность в сухих трупах гусениц при 4—5° в течение 10 лет, и она терялась только после 12-летнего хранения. В полиэдрах, хранившихся многие годы, под световым микроскопом (×1200) не обнаруживалось никаких морфологических различий. Смертность гусениц зависела от продолжительности хранения полиэдров. В табл. 13 приводятся данные из работы Нейлсон и Илги.

В течение первых нескольких лет хранения не выявлялось различия в вирулентности полиэдров, и она стала заметно падать лишь после десятилетнего хранения.

Полиэдры рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer*) сохраняли вирулентность в течение 8 лет при хранении в трупах ложногусениц при 18—24° [4].

Были сделаны наблюдения, что сырой препарат гранул капустной совки (*Pieris brassicae*) сохранял еще свою активность после четырехмесячного зимнего пребывания на капустных ли-

Таблица 13

Влияние продолжительности хранения полиэдров на их вирулентность [53]

Продолжительность хранения, лет	Концентрация полиэдров, мл	Смертность, %	Число дней до смерти
2	43×10^6	100	5,9
	5×10^4	100	8,9
5	$6,2 \times 10^6$	100	7,2
	5×10^4	100	10,6
6	91×10^6	100	7,2
8	137×10^6	100	9,6
9	99×10^6	100	10,0
10	71×10^6	70	16,0
	53×10^6	83	12,0
11	370×10^6	33	13,0
	215×10^6	37	13,0
12	740×10^6	0	—
13	370×10^6	0	—
14	260×10^6	0	—
15	280×10^6	0	—

стьях на открытом воздухе. В другом случае гранулы из сухого остатка трупов, погибших от гранулеза гусениц, хранившиеся в стеклянной пробирке в вегетационном домике в течение двух лет, обнаруживали очень слабую активность [41, 42]. Полиэдры тутового шелкопряда сохраняли свою вирулентность в гемолимфе в течение 20 лет при хранении их в запаянных пробирках [30].

Ядерные полиэдры капустной металлоидки (*Trichoplusia ni*) сохранялись в поверхностном слое почвы около 5 лет [47, 48].

Полиэдрический антиген непарного шелкопряда выявлялся с помощью метода флуоресцирующих антител в верхнем слое почвы лесхозов Амурской области через несколько лет после того, как в 1966 г. там наблюдались массовые эпизоотии ядерного полиэдроза [4].

Канинхем [40] испытывал влияние продолжительности хранения ядерных полиэдров *Lambdina fiscellaria fiscellaria* на их вирулентность. Полиэдры отмывались дифференциальным центрифугированием и приводились к стандартной концентрации с помощью счетной камеры для бактерий. Мазки полиэдров проверялись в фазово-контрастном микроскопе, а ультратонкие срезы осадков полиэдров — в электронном микроскопе.

При сравнении вирулентности полиэдров образца 1963 и 1969 гг. оказалось, что она была резко различной. При заражении гусениц полиэдрами образца 1963 г. в концентрации 10^6 и

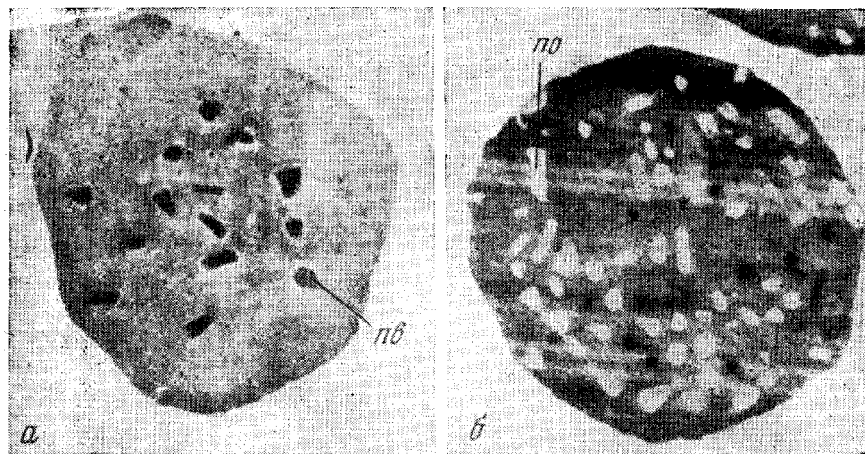


Рис. 34. Полиэдры *Lambdina fiscellaria fiscellaria* после шестилетнего хранения [40]

а — «свежий» полиэдр с пучками вирионов (пв); б — после хранения. Видны пустые отверстия (по) на месте пучков вирионов. Ультратонкий срез. $\times 14\,500$

10^7 пол/мл смертность гусениц составила 0 и 29% соответственно, при заражении свежими полиэдрами — 86 и 95% соответственно. На 1 г живого веса гусениц выход полиэдров был больше в случае использования высушенных полиэдров, чем в случае использования полиэдров из разложившихся гусениц.

В фазово-контрастном микроскопе свежие полиэдры выглядели гомогенными и темными, полиэдры шестилетнего «возраста» — светлыми и имеющими внутреннюю структуру. На ультратонких срезах шестилетних полиэдров можно было видеть вместо большинства вирусных пучков пустые отверстия, в то время как в свежих полиэдрах сохранялись нормальные пучки вирионов (рис. 34). Таким образом, ядерные полиэдры *Lambdina fiscellaria fiscellaria* оказались менее устойчивыми при хранении, чем другие полиэдры. Сохранение вирулентности полиэдров при 4—5° в течение нескольких лет вполне достаточно для использования их в практических целях.

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО И ДРУГИХ ВИДОВ ИЗЛУЧЕНИЯ НА ВИРУЛЕНТНОСТЬ ПОЛИЭДРОВ И ГРАНУЛ

При нанесении вирусного препарата (полиэдров и гранул) на кормовые растения вирусные включения подвергаются действию солнечной радиации. Особенно важно знать влияние фиолетовой и ультрафиолетовой частей спектра на вирусные включения, длина волны которых находится между 260 и 360 Å.

Дэвид и др. [43] подробно изучали влияние прямого солнечного света на очищенные гранулы *Pieris brassicae*, нанесенные на верхнюю поверхность капустных листьев. Вирусный препарат подвергался предварительно тщательной очистке во избежание возможного косвенного действия загрязнений (защитного или, наоборот, инактивирующего). Вирус существенно инактивировался после трехчасовой экспозиции к прямому солнечному свету, а после 12—19-часовой экспозиции полностью терял вирулентность.

Очищенные препараты гранул *Estigmene asrea* [38] и вируса ядерного полиэдроza *Trichoplusia ni* [38, 47] теряли активность в течение одной минуты.

Дэвид [44] сравнивал влияние УФ-радиации определенной длины волны (253,7 нм, интенсивность облучения 83 мкв/см²) на сырые и сухие, очищенные и неочищенные препараты гранул.

Неочищенные гранулы и в сырых и в сухих препаратах значительно лучше сохраняли свою активность, чем очищенные вирусные суспензии. Последние теряли вирулентность уже через полчаса после экспозиции к УФ, в то время как неочищенные гранулы сохраняли ее до 2 час. (сырые препараты) и 120 час. (сухие препараты). Инактивация препарата при длине волны 320 нм происходила при интенсивности излучения 59×10^4 — 118×10^4 мкв/сек/см².

Изучалось действие прямого солнечного света и УФ-лучей на ядерные полиэдры *Lambdina fiscellaria lugubrosa* [52]. Сухие полиэдры экспонировались к прямому солнечному свету в течение 1, 5, 10, 35 и 140 час. Образцы затем ресуспендировались в дистиллированной воде в концентрации $2,33 \times 10^6$ пол/мл и скармливались гусеницам V возраста с листьями дуба (дисковым методом) в равных количествах. Смертность гусениц падала линейно по мере увеличения экспозиции к прямому солнечному свету. Так, если неэкспонированные полиэдры вызывали 83%-ную смертность, то после одночасовой экспозиции она была равна 72%, после 5-часовой — 50, 10-часовой — 38, через 35 час. — 11 и через 140 час. — 10%. Среднее число дней до гибели гусениц возрастало. Таким образом, солнечная радиация снижала патогенность полиэдров.

Сырые и сухие образцы полиэдров подвергались действию УФ-облучения с длиной волны 366 нм при 560 W/сек/см² на расстоянии 19,5 см. Оказалось, что в пределах 100-часовой экспозиции лучи с длиной волны 366 нм оказывали слабое вицицидное действие. Увеличивалось заметно только среднее время до гибели гусениц LT_{50} .

В наших экспериментах по влиянию УФ-лучей на вирулентность очищенных ядерных полиэдров непарного шелкопряда *P. dispar* они теряли ее на 50% уже при облучении в течение 10 мин. (мощность дозы $3,9 \times 10^6$ эрг/см²/сек, расстояние 9 см) [25].

Кроме УФ-радиации оказывают большое влияние на все живые объекты в природе х- и γ-лучи.

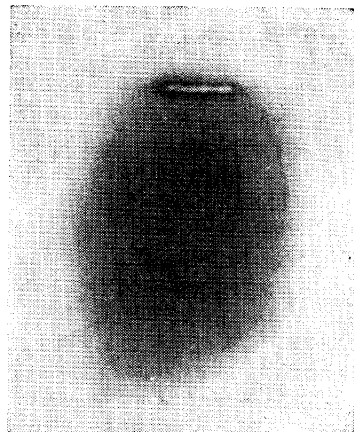


Рис. 35. Гранула озимой совки (*A. segetum*) после γ -облучения. $\times 13\,000$. Оригинал

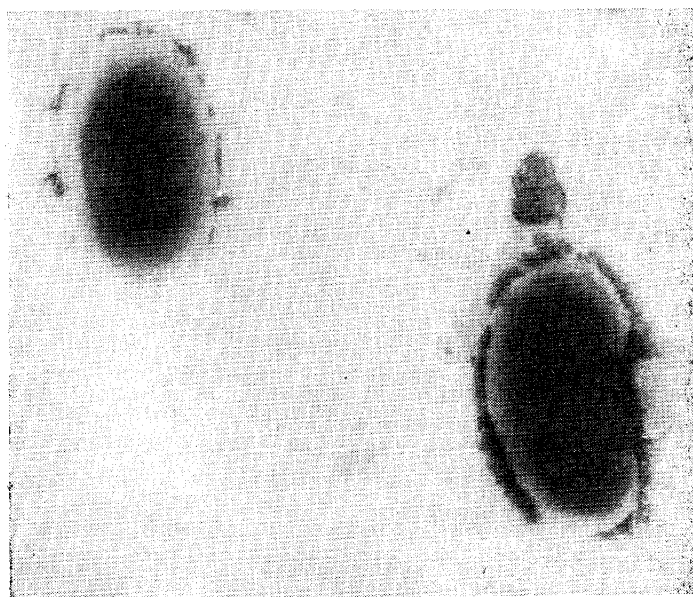


Рис. 36. Гранулы американской белой бабочки (*H. cunea*) после γ -облучения. $\times 13\,000$. Оригинал

Ядерные полиэдры американского кольчатого шелкопряда (*Malacosoma americanum*) облучались дозами γ -лучей 3×10^5 , 5×10^5 , 8×10^5 и 2×10^6 рад. Первые две дозы не оказывали заметного влияния на смертность гусениц и, следовательно, вирулентность полиэдров. Доза 8×10^5 рад несколько снижала вирулентность, а доза 2×10^6 рад полностью инактивировала полиэдры [55].

Моррис [52] не обнаружил заметного влияния γ -радиации на ядерные полиэдры *Lambdina fiscellaria lugubrosa* при дозе облучения $1,6 \times 10^5$ рад. Смертность гусениц, инфицированных облученными полиэдрами, составила 77%, без облучения — 83%.

В наших экспериментах с ядерными полиэдрами непарного шелкопряда (*P. dispar*) испытывались дозы γ -облучения, $1,6 \times 10^5$, $3,2 \times 10^5$, 5×10^5 и 9×10^5 рад. В качестве источника излучения использовался Co^{60} и Co^{137} . Первые три дозы были неэффективны и не снижали вирулентности полиэдров. Облучение дозой 9×10^5 рад полностью инактивировало полиэдры (смертность гусениц была равна контролю). Необлученные полиэдры вызывали 72% гибели гусениц [25]. Таким образом, для инактивации полиэдров и гранул γ -облучением требуется достаточно большая доза, порядка нескольких сотен килорад.

На рис. 35 приводится электронография гранулы озимой совки (*A. segetum*) после γ -облучения. Объем гранулы увеличивается приблизительно в 5 раз против обычного, а вирион как бы выталкивается к периферии гранулы.

На рис. 36 представлена электронография гранул американской белой бабочки (*H. cunea*) после γ -облучения. Объем гранул увеличен примерно в 2 раза, видно отслаивание внутреннего содержимого гранул от периферического слоя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев А. Г. 1973. Желтуха тутового шелкопряда и ее генетическая профилактика. Автореф. докт. дисс. М.
2. Ганиева М. Р., 1956. В сб. «Инфекционные и протозойные болезни полезных и вредных насекомых». М., Сельхозгиз.
3. Ганиева М. Р., Вербицкая Г. А., Зворыкина В. В. 1967. Шелк, № 1, 12.
4. Гулий В. В. 1972. Экология, № 4, 32.
5. Дикасова Е. Т. 1959. Узб. биол. журн., № 2, 72.
6. Дикасова Е. Т. 1969. Гранулез озимой совки. Ташкент, «ФАН».
7. Дуло В. Ю. 1971. В сб. «Биологическая защита плодовых и овощных культур». Кишинев.
8. Залмонзон Е. С. 1949. Микробиология, 18, 4, 361.
9. Заринь И. А. 1968. В сб. «Биологический метод борьбы с вредителями растений». Рига, «Зинатне».
10. Карпов А. Е. 1959. Допов. АН УРСР, № 9, 1015.
11. Красницкая Р. С. 1971. В сб. «Биологическая защита плодовых и овощных культур». Кишинев.
12. Ованесян Т. Т. 1951. Зоол. журн., № 1, 86.
13. Ованесян Т. Т., Дидебулидзе К. А. 1961. Тезисы юбил. научн. сессии, посвящ. 40-летию установления Советской власти в Грузии и образования Компартии Грузии. Тбилиси.

14. Орловская Е. В., Доровская М. М., Ковалева В. Я. 1968. В сб. «Биологический метод борьбы с вредителями растений». Рига, «Зинатне».
15. Полтев В. И. 1956. В сб. «Инфекционные и протозойные болезни полезных и вредных насекомых». М., Сельхозгиз.
16. Полтев В. И. 1964. Болезни пчел. М., «Колос».
17. Рыжков В. Л., Гигаури Е. А. 1945. Микробиология, **14**, 5, 353.
18. Сиротина М. И. 1949. Докл. ВАСХНИЛ, № 4, 22.
19. Тарасевич Л. М. 1959. Материалы I Междунар. конф. по патол. насекомых и биол. методам борьбы с вредит. Прага, 1958.
20. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф. 1958. Изв. АН СССР, сер. биол., № 3, 352.
21. Тарасевич Л. М., Ермакова Г. И. Радиобиология, **10**, 1, 151.
22. Тарасевич Л. М., Кириллова Г. Н., Трофимова Т. И. 1970. Садов., виноград. и винодел. Молдавии, № 12, 38.
23. Тарасевич Л. М., Кириллова Г. Н. 1973. Садов., виноград. и винодел. Молдавии, № 8, 71.
24. Тарасевич Л. М., Рындовская Ю. Л., Бескина С. Р., Минкевич Н. И. 1973. Докл. ВАСХНИЛ, № 8, 37.
25. Тарасевич Л. М. 1975. Вирусы насекомых. М., «Наука».
26. Тимофеева Е. Р. 1952. Труды ВИЗР, вып. 4, 56.
27. Чураев И. А. 1962. Американская белая бабочка. М., «Колос».
28. Швецова О. И. 1950. Микробиология, **19**, 6, 532.
29. Шехурина Т. Д. 1968. Труды ВИЗР, вып. 31, 10.
30. Штейнхауз Э. А. 1952. Патология насекомых. Пер. с англ. М., ИЛ.
31. Aizawa K. 1962. J. Insect Pathol., **4**, 72.
32. Aizawa K., Furuta J. 1962. Insect Pathol., **4**, 465.
33. Aizawa K. 1963. J. Insect Pathol., **5**, 356.
34. Aizawa K. 1962. J. Insect Pathol., **4**, 122.
35. Aruga H., Yoshitake N. 1961. Jap. J. Appl. Entomol., Zool., **5**, 49.
36. Aruga H. 1963. Induction of Virus Infections. In «Insect Pathology». An Advanced Treatise. Steinhaus E. ed., **1**, 499, Acad. Press., N.-Y.—Ld.
37. Bird F. T. 1955. Can. Entomol., **87**, 124.
38. Cantvill G. E. 1967. J. Invert. Pathol., **9**, 138.
39. Biever K. D., Hostetter D. L. 1971. J. Invert. Pathol., **18**, 81.
40. Cunningham J. C. 1970. Can. Entomol., **102**, 12, 1534.
41. David W. A. L., Cardiner B. O. C. 1966. J. Invert. Pathol., **8**, 180.
42. David W. A. L., Gardiner B. O. C. 1967. J. Invert. Pathol., **9**, 555.
43. David W. A. L., Gardiner B. O. C. 1968. J. Invert. Pathol., **11**, 496.
44. David W. A. L. 1969. J. Invert. Pathol., **14**, 386.
45. Jafri R. H. 1966. J. Sci. Res. Panjab. Univ. Lahore Pakistan, **1**, 83.
46. Jafri R. H., Chaudry M. C. 1971. J. Invert. Pathol., **18**, 46.
47. Jaques R. P. 1967. Can. Entomol., **99**, 820.
48. Jaques R. P. 1969. J. Invert. Pathol., **13**, 2, 256.
49. Krieg A. 1955. Arch. Ges. Virusforsch., **6**, 163.
50. Linley J. R., Nielson H. T. 1968. J. Invert. Pathol., **12**, 17.
51. Morris O. N. 1962. J. Insect Pathol., **4**, 207.
52. Morris O. N. 1971. J. Invert. Pathol., **18**, 292.
53. Neilson M. M., Elgee D. E. 1960. J. Insect Pathol., **2**, 165.
54. Smirnoff W. A. 1962. Entomophaga Mem., **2**, 459.
55. Smirnoff W. A. 1957. J. Invert. Pathol., **9**, 2, 269.
56. Smith K. M. 1967. Insect Virology, Acad. Press., N.-Y.—Ld.
57. Stairs G. R. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 427.
58. Tanada Y. 1953. Proc. Hawaii Ent. Soc., **15**, 235.
59. Tanada Y. 1956. J. Econ. Entomol., **49**, 52.
60. Tanada Y., Reiner K. 1962 (cit. [32]).
61. Tanada Y., Tanabe A. M. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 184.
62. Thompson C. C. 1959. J. Insect Pathol., **1**, 189.
63. Tvermyr S. 1969. Entomophaga, **14**, 3, 25.
64. Vago C. 1953. 6 Congr. Intern. Microbiol., **5**.
65. Vago C. 1962. Int. Coll. de pathol. d'insectes. Paris.
66. Yamafuji K. 1967. Insect Pathol. a. Microbiol. Control. Amsterdam.

Глава шестая

ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ НАСЕКОМЫХ

Основными способами передачи вирусных инфекций насекомых являются передача через кишечный тракт с кормом и трансовариальная передача. Насекомое может быть также инфицировано вирусом через гиподерму (при уколах или ранениях) и через дыхальца при попадании на них вируса.

При массивном заражении больных гусениц генеталии самок могут быть запачканы вирусом, таким образом вирус попадает на поверхность хориона яиц. При вылупливании гусеницы прогрызают хорион и инфицируются вирусом.

Трупы погибших от вирусной инфекции гусениц представляют концентрат вируса и являются рассадником инфекции. Сырые трупы пачкают кормовые растения, и здоровые гусеницы, которые передвигаются по этим растениям, оказываются инфицированными. Выпадающие осадки, вымывая инфекционный материал, разносят его в нижние ярусы растений и в почву, где вирус сохраняется значительно дольше, будучи защищен от солнечной радиации.

Высохшие остатки погибших гусениц разносятся ветром на значительные расстояния, а также служат источником инфекции. Инфекция может передаваться также паразитическими и хищными насекомыми. Так, например, различные виды мух — саркофаг, получившие в корм суспензию полиэдров капустной металловидки (*Tricoplusia ni*), выделяли их с фекасами. В кишечнике мух, содержимое которого суспендировалось в воде, было найдено большое количество полиэдров ($3,8 \times 10^7$ пол/мл). Полиэдры, прошедшие желудочно-кишечный тракт мух, были вирулентны для гусениц *Trichoplusia ni* [30].

Все описанные выше пути распространения инфекции получили название *горизонтальной* передачи.

Второй путь распространения инфекции — *вертикальный*, т. е. передача вируса от родителей потомству через инфицированное изнутри яйцо, или трансовариальная передача.

Горизонтальный путь распространения инфекции у насекомых был наиболее полно изучен для тутового шелкопряда. Вирусное заболевание шелкопряда — ядерный полиэдроз, или «желтуха», — наносит огромный экономический ущерб шелководству,

поэтому естественно стремление найти способы борьбы с этим заболеванием или значительно снизить наносимый им ущерб. Было предложено много различных способов профилактики и борьбы с «желтухой».

Позже, когда возник интерес к вирусным инфекциям вредных насекомых, стали изучаться пути и способы распространения вирусов, поражающих вредителей сельского и лесного хозяйства.

Доказательства трансовариальной передачи вирусов насекомых пришли к нам вместе с более тонкими, специфическими методами исследований.

ГОРИЗОНТАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИИ

После установления природы вирусного заболевания тутового шелкопряда были предложены многочисленные способы дезинфекции инвентаря и оборудования на червоводнях.

Бергольд [23] показал, что вирус ядерного полиэдроза присутствует на поверхности яиц насекомых, и предложил освобождать яйца от вируса с помощью обработки их щелочью и спиртом. Далее идет серия работ, совершенствующих и расширяющих приемы поверхностной обработки яиц от вирусной инфекции [3, 4, 7, 13, 19, 28, 43].

Нами было показано, что основным источником возникновения вирусной инфекции на выкормках тутового шелкопряда является вирус, находящийся на поверхности яиц. Поверхностная обработка яиц, предложенная нами [19], не снижала жизнеспособности гусениц (яиц) и значительно уменьшала число больных гусениц. Используя индивидуальную культуру гусениц тутового шелкопряда и отбор здоровых кладок наряду с поверхностной обработкой яиц, мы получили свободную от полиэдроза линию тутового шелкопряда японской бивольтинной породы, которая в течение семи лет не давала вспышек спонтанных эпизоотий даже при воздействии стрессоров.

У капустной белянки (*Pieris brassicae*) вирус удалялся с поверхности яиц дезинфицированием, а вылупившиеся гусеницы выкармливались на пище, свободной от вируса. В течение трех поколений не наблюдалось вирусного заболевания у гусениц даже после действия стрессоров [27].

Применяя профилактику полиэдроза на выкормках тутового шелкопряда в колхозе «Победа» Ставропольского края, удалось значительно повысить урожай коконов [20].

Ованесян [13], применив индивидуальную культуру гусениц наряду с посемейным отбором кладок яиц, получала на племенной станции Грузии линии шелкопряда, свободные от полиэдроза.

Алиев [1], применив отбор здоровых гусениц наряду с провокацией латентной формы полиэдроза, получил устойчивые к полиэдрозу породы тутового шелкопряда. Мадрахимов [11] получил сходные результаты.

В лабораторных исследованиях часто возникает необходимость работать с насекомыми, свободными от вирусной инфекции. С этой целью используют дезинфекцию яиц, с тем, чтобы если полностью и не освободить яйца от вируса, то хотя бы значительно снизить процент гибели гусениц.

Делалось много попыток освободиться от вирусной инфекции на выкормках тутового шелкопряда скормливанием гусеницам различных химических соединений [1, 10, 13, 15, 18, 28]. В этом направлении были достигнуты определенные успехи, однако эффект применения этих соединений зависит от многих причин (породы гусениц, дозы и времени инфицирования, физиологического состояния гусениц), поэтому их применение должно быть приурочено к строго определенным конкретным условиям.

В природных условиях эпизоотии вирусных инфекций могут возникать и при постепенном накоплении вирусной инфекции в популяции, и при активации латентной формы вируса. Факторы, активизирующие латентную инфекцию у насекомых, будут описаны нами в главе VII.

Наиболее ярким примером распространения вирусной инфекции в окружающей среде является распространение вирусов, образующих включения (полиэдры) в кишечнике насекомых. Из пораженного кишечника выделяется огромное количество полиэдров, загрязняющих листья, лесную подстилку, по которым передвигается масса здоровых насекомых. Кроме того, сами трупы погибших гусениц представляют собой источник инфекции. Источником инфекции у рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer*) могут быть также инфицированные с поверхности яйца насекомого. При прогрызании хориона гусеницы заражаются вирусом ядерного полиэдроза [6]. Подобный способ передачи инфекции был установлен ранее у североамериканской желтушки (*Colias euritheme*) [34].

ТРАНСОВАРИАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА ВИРУСА (вертикальный путь распространения инфекции)

Давно было замечено, что при инфицировании гусениц перед завивкой коконов или в стадии куколки развивающиеся бабочки откладывают яйца и вылупившиеся из них гусеницы в значительной степени погибают от вирусной инфекции. Это свидетельствовало о том, что вирусная инфекция может передаваться от родителей потомству через инфицированное яйцо.

Похил и Тараненко [14] наблюдали случаи ядерного полиэдроза у личинок I возраста в день их выхода из яйца в условиях нормальной инкубации гусениц.

При инфицировании личинок III возраста филтратом трупа бабочек, содержащих полиэдры, авторы наблюдали у гусениц развитие полиэдроза. Такие же данные были получены Бергольдом [23]. Дикасова [7] обеззараживала яйца тутового шелко-

пряда с поверхности различными способами и, несмотря на это, наблюдала у гусениц, вылупившихся из этих яиц, гибель от полиэдроза. Далее этим автором были обнаружены скопления полиэдров под серозной оболочкой яиц [7]. Подобные данные были получены Летье [32] для тутового шелкопряда (*Bombyx mori*) и Рогнер-Ауст [35] для монашенки (*Lymantia monacha*).

Вирус ядерного полиэдроза дубового шелкопряда (*Anthraaea pernyi*) передавался потомству от бабочек-вирусоносительниц [16, 17]. Кладки яиц нескольких видов *Malacosoma* переносились из областей, где в течение нескольких лет наблюдался полиэдроз, в область, абсолютно свободную от вируса, и уже через 20 дней среди вылупившихся гусениц I возраста наблюдалась смертность от полиэдроза [26]. Передача вируса сигма-дрозофилы была показана на протяжении 20 поколений у трех штаммов мух [36].

У *Spodoptera exempta* вирус ядерного полиэдроза был обнаружен в гусеницах, вылупившихся из яиц, отложенных бабочками, перенесенными из природы в лабораторию. Щелочная дезинфекция яиц не уменьшала процент погибших гусениц, что свидетельствовало о присутствии вируса внутри яиц [38].

Трансовариальная передача вируса ядерного полиэдроза кишечника показана Берд [25] для *Diprion hercyniae* и Смирновым для *Neodiprion swainei* [37]. Так, у *Neodiprion swainei* 90% потомства, полученного от самок, зараженных вирусом ядерного полиэдроза, погибло на протяжении 15 дней.

Вирус подгрызающей совки (*Prodenia litura*) также передается трансовариально [29].

Нами было показано, что вирус ядерного полиэдроза тутового шелкопряда находится как на поверхности, так и внутри яиц, отложенных больными бабочками. Продезинфицированные с поверхности яйца на 49% были нежизнеспособными и содержали внутри вирулентный вирус [19].

Трансовариальная передача была показана также и для вируса цитоплазматического полиэдроза тутового шелкопряда [22, 31], и для гусениц луговой совки (*Pseudaletia unipuncta*) [40].

При электронно-микроскопическом изучении ультратонких срезов яиц у семи видов чешуекрылых в яйцах были обнаружены тельца-включения в периферическом слое под хорионом.

Возможность размножения вируса в половых клетках самцов и самок насекомых была продемонстрирована в работах Трегера [41], Умея и др. [42], Михайлова [12], Таками и др. [39].

Однако наряду с многочисленными работами, доказывающими трансовариальную передачу вирусов насекомых, имелись работы, отрицающие такую передачу.

Так, Ямафуджи и др. [45] инфицировали бабочек тутового шелкопряда вирусом ядерного полиэдроза и не обнаружили полиэдров в следующем поколении личинок, вылупившихся из яиц, отложенных инфицированными самками. Подобные отрицатель-

ные результаты были получены Айзава [21] при инфицировании куколок тутового шелкопряда вирусом ядерного полиэдроза. В последующей генерации не наблюдалось разницы в смертности личинок, полученных из яиц от нормальных и инфицированных самок.

Григорова [5] не обнаружила полиэдров в яйцах непарного шелкопряда, полученных из популяции, где наблюдались вспышки эпизоотий, и в лаборатории, где гусеницы заражались в V возрасте вирусом полиэдроза. Температурный стресс также не вызывал образования полиэдров.

Противоречивые литературные данные заставили нас исследовать возможность трансовариальной передачи вирусов насекомых с помощью более тонких и специфических методов исследования. В качестве такового был избран метод иммунофлуоресцирующих антител, который основан на взаимодействии антител с флуоресцирующим красителем и сочетает в себе высокую чувствительность серологических реакций и четкость и контрастность люминесцентно-микроскопических картин. Мы исходили из предложения, что вирус может находиться в яйцах не только в форме полиэдров, но и в какой-либо другой форме, недоступной для исследования методами обычной световой микроскопии.

Гусеницы тутового шелкопряда инфицировались вирусом ядерного полиэдроза перед самой завивкой коконов суспензией полиэдров, содержащей 10^6 , 2×10^6 и 5×10^6 полиэдров в 1 мл.

Часть бабочек отложила жизнеспособные яйца. Вылупившиеся гусеницы погибали от полиэдроза в соответствии с дозой заражения (14,4, 22,2 и 36,6% против 4,4% в контроле). Яйца, отложенные бабочками-вирусоносительницами, подвергались анализу по непосредному методу Уиллера и Кунса [44].

Предварительно яйца дезинфицировались с поверхности [19], зародыши извлекались из скорлупы и исследовались на содержание вирусного антигена с помощью иммунофлуоресцирующих антител, с использованием многочисленных контролей и устранением неспецифического свечения специальными обработками антисыворотки [9].

Оказалось, что подавляющая часть антигена локализуется в околоплодной жидкости, а не в зародыше. На основании анализа большого числа препаратов-мазков в люминесцентном микроскопе МЛ-2 было показано, что вирусный антиген в яйцах тутового шелкопряда присутствует в виде трех форм: целых полиэдров обычных размеров, скоплений мелких полиэдров и крупных образований, условно названных нами «виروпластами» по аналогии с виروпластами, обнаруженными при развитии вируса оспы [2]. У полиэдров яркое свечение обнаруживалось по периферии, скопления мелких полиэдров светились целиком, а виропласты показывали разную интенсивность свечения — от слабого до сплошного (рис. 37, а—б). Оказалось, что соотношение форм вирусного антигена претерпевает количественное изменение при

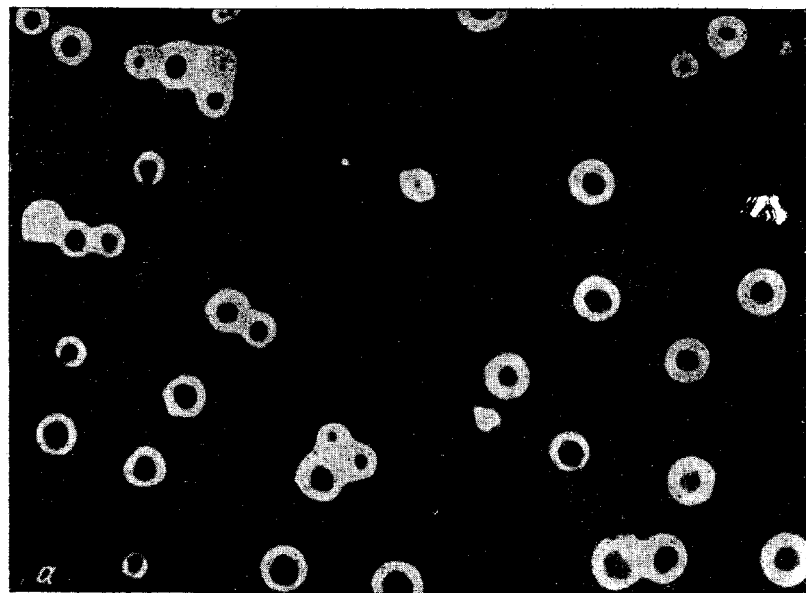


Рис. 37. Иммунофлуоресценция антигена полиэдров в мазках из яиц тутового шелкопряда (*Bombyx mori*)
 а — полиэдры, б — виропласты.

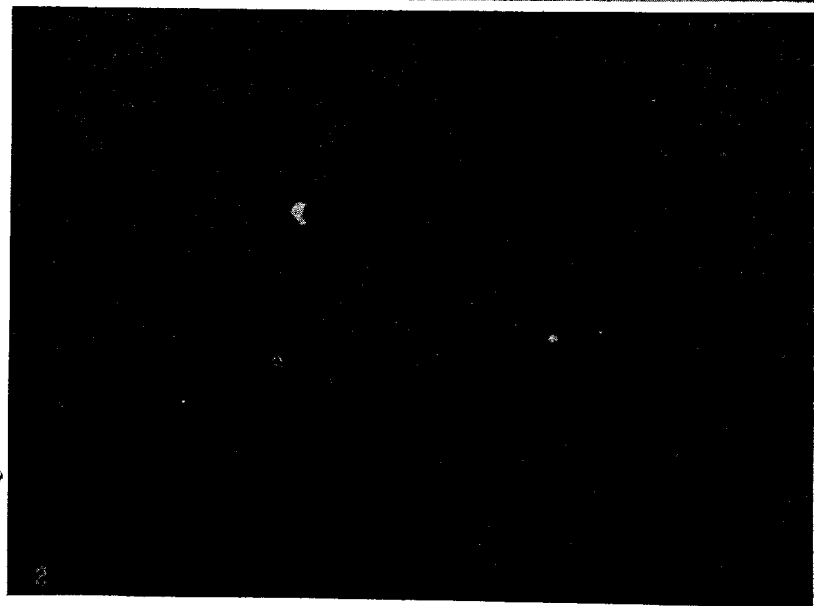
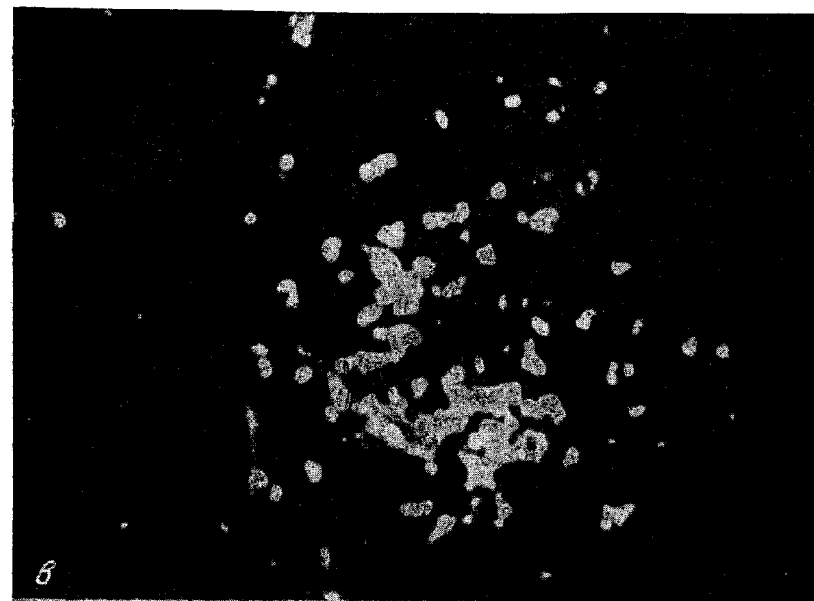


Рис. 37. Окончание
 в — скопление мелких полиэдров, з — контроль Фото Г. И. Ермаковой

хранении и инкубации яиц. Количество «виروпластов» уменьшается, а количество мелких и крупных полиэдров увеличивается. На основании полученных данных нами было сделано предположение об образовании полиэдров из виропластов [8, 9]. Таким образом, тонкий и специфический метод окончательно доказывал существование трансовариальной передачи вируса ядерного полиэдроза.

Трансовариальная передача была показана и у вирусов, не образующих включений. Кроме вируса σ -дрозофилы [24] такая передача была продемонстрирована несколькими исследователями для радужного вируса комара *Aedes taeniorhynchus*. Так, Линлей и Нильсен [33], заражая личинки комаров перед окукливанием, наблюдали в последующей генерации появление больных личинок. Степень инфицирования была сравнительно высокой для комаров (9,8—12,8%).

Чтобы исключить возможность механической передачи вируса через яйца, последние обрабатывались гипохлоритом натрия и сулемой. Гибель личинок была одинаковой в случае дезинфекции яиц и без нее (12,8; 9,8 и 10% соответственно). Таким образом, была доказана истинная передача вируса через яйцо.

На ультратонких срезах яичников взрослых комаров *Aedes taeniorhynchus*, развивающихся из инфицированных личинок, наблюдались многочисленные вирусные частицы. Большая часть из них локализуется в клетках фолликулярного эпителия и в питающих клетках фолликул. Такая локализация вирионов свидетельствует о том, что ткань яичников является активным местом репликации вируса. Другими словами, радужный вирус комаров передается инфицированными самками их потомству трансовариально.

Трансовариальная передача вирусов наряду с другими способами передачи способствует широкому распространению вирусных инфекций в природе и служит одним из факторов возникновения эпизоотий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев А. Г. 1973. Желтуха тутового шелкопряда и ее генетическая профилактика. Автореф. докт. дисс. М.
2. Быковский А. Ф. 1968. Автореф. канд. дисс. М.
3. Гершензон С. М. 1954. Допов. АН УРСР, № 6, 460.
4. Гигаури Е. А. 1947. В сб. «Желтуха тутового и дубового шелкопряда». М.
5. Григорова Р. 1959. Изв. на Инстит. за гората, № 5, 343.
6. Гулий В. В. 1967. Вирусные инфекции пилильщиков, массовых вредителей лесов в Среднем Приобье. Автореф. канд. дисс. Новосибирск.
7. Дикасова Е. Т. 1949. Микробиология, 18, 4, 356.
8. Ермакова Г. И., Тарасевич Л. М. 1968. Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
9. Ермакова Г. И., Тарасевич Л. М. 1968. Вопросы вирусол., № 1, 89.
10. Карпов А. Е., Кудря М. С., Гершензон С. М. 1959. Допов. АН УРСР, № 5, 550.
11. Мадрахимов Ф. 1965. Бюлл. НТИ, журн. «Шелк», № 2, 5.

12. Михайлов Е. Н. 1955. Социал. с. х. Узбекистана, № 1, 67.
13. Ованесян Т. Т. 1973. Ядерный полиэдроз тутового шелкопряда в Грузии. Автореф. докт. дисс. Тбилиси.
14. Похил А. И., Тараненко Н. Н. 1936. Анналы Мечниковск. ин-та, 4, 2, 30. Харьков.
15. Рыжков В. Л., Гигаури Е. А. 1945. Микробиология, 14, 5, 353.
16. Сиротина М. И. 1951. В сб. «Болезни дубового шелкопряда и меры борьбы с ними». Киев.
17. Сиротина М. И. 1953. Докл. ВАСХНИЛ, вып. 7, 32.
18. Тарасевич Л. М. 1950. Аннотации работ Ин-та вирусол. АМН СССР за 1949 г. М.
19. Тарасевич Л. М. 1953. Микробиология, 22, 3, 311.
20. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф. 1957. Вестник с. х. науки, № 7, 120.
21. Aizawa K. 1961. J. Sericult. Sci. Japan, 30, 109.
22. Aruga H., Nagashima E. 1962. J. Insect Pathol., 4, 313.
23. Bergold G. H. 1942. Biol. Zentrbl., 62, 3/4.
24. Bernard J. 1966. Compt. R. A. Sci. D., 262, 19, 2102.
25. Bird F. T. 1961. J. Insect Pathol., 3, 352.
26. Clark E. C. 1956. Ecology, 37, 728.
27. David N. A. L., Gardiner B. O. C. 1966. J. Invert. Pathol., 8, 325.
28. Derevici A., Portokala P., Vasilescu P. 1950. Analele Academiei Republ. Populare Romane, 11, Mem. 23.
29. Harpaz I., Ben-Shaked I. 1964. J. Insect Pathol., 6, 127.
30. Hostetter D. L. 1971. J. Invert. Pathol., 17, 130.
31. Hukuhara T. 1962. J. Insect Pathol., 4, 132.
32. Letije W. 1939. Seidenbauforschung, 1, 1—68, Kornen, Stuttgart.
33. Linley J. R., Nielsen H. T. 1968. J. Invert. Pathol., 12, 17.
34. Martignoni M. E., Mealstead J. E. 1962. J. Insect Pathol., 4, 113.
35. Roegner-Aust S. 1947. Die Naturwissenschaft., 34, H. 5, 158.
36. Seecof R. 1968. Current Topics Microbiol. a. Immunol., 42, 59.
37. Smirnov W. A. 1962. J. Insect Pathol., 4, 192.
38. Swaine G. 1966. Nature (Engl.), 210, 5040, 1053.
39. Takami T., Hatiro S., Kitodsawa T., Kanda T. 1966. J. Appl. Entomol., Zool., 10, 4, 197.
40. Tanada Y., Chang G. Y. 1960. J. Insect Pathol., 2, 3, 201.
41. Trager W. 1935. J. Exp. Med., 8, 501.
42. Umeya J., Aizawa K., Nakamura K. 1955. Acta Sericol., 13, 2, 5.
43. Vago C. 1954. Bull. Soc. Zool. France, 79, 2—3, 138.
44. Weller T. H., Coons S. H. 1954. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 86, 4, 789.
45. Yamafuji K., Joshihara F., Yoshimoto S. 1953. Enzymologia, 16, 1, 51.

ЛАТЕНТНЫЕ ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ НАСЕКОМЫХ

Латентные инфекции насекомых очень широко распространены.

Понятие латентности в общем виде выражает явление, когда вирус, находясь в организме-хозяине, ничем себя не проявляет. Устанавливается некое равновесие между хозяином и паразитом, которое при определенном условии может быть нарушено, и тогда латентная форма вируса переходит в открытую, инфекционную форму, вызывая инфекционное заболевание. Существует много различных терминов для характеристики латентного состояния вирусов, часто являющихся синонимами, поэтому на VII Международном конгрессе по микробиологии (1958 г.) в Стокгольме и на симпозиуме в Висконсине (1958 г.), специально посвященном латентности и маскированию при вирусных и риккетсиозных инфекциях, было предложено пользоваться следующими определениями.

Латентные инфекции — скрытые (inapparent) инфекции. Это хронические инфекции, при которых между хозяином и вирусом устанавливается определенное равновесие.

Инаппарантные инфекции покрывают собой все случаи взаимоотношений хозяина и вируса, когда в системе отсутствуют явные признаки инфекции. В медицинской вирусологии этот термин может быть заменен термином «субклиническая инфекция».

Термин «окультный» (затемненный) вирус используется, когда действительное состояние вируса не может быть еще установлено.

В бактериофагии установились термины, соответствующие различным состояниям фаговой инфекции: «провирус», «вегетативный вирус», «инфекционный вирус», «умеренный вирус» [39].

Гершензон, сопоставляя свойства профагов лизогенных бактерий с латентными вирусами ядерного полиэдроза, пришел к выводу, что явление скрытого вирусоносительства у насекомых имеет много общего с профагами лизогенных бактерий. Провирус, как и профаг, присутствует почти у всех особей насекомых, не вызывая у них никаких изменений, и может оставаться неактивным в течение многих поколений. Провирус, как и профаг, может переходить в активное, инфекционное состояние. Частота

активации контролируется как генетическими факторами, так и факторами окружающей среды. Отличие провируса от профага, согласно Гершензону, заключается в том, что присутствие провируса не предохраняет от возможности заражения соответствующим активным вирусом ядерного полиэдроза [2].

Наблюдая активацию латентной инфекции в популяциях американской белой бабочки, тутового шелкопряда, медоносной пчелы, мы обратили внимание на то обстоятельство, что при искусственном инфицировании указанных выше гусениц и взрослых пчел, несущих латентную инфекцию, начало гибели гусениц и динамика процесса гибели полностью совпадают в вариантах с искусственным инфицированием и в контроле. Разница заключается лишь в степени гибели насекомых. При искусственном инфицировании процент гибели гусениц был выше, но в тех случаях, когда проявление латентной инфекции достигало значительных размеров, процент гибели мог быть одинаковым. Это могло означать лишь то, что при инфицировании насекомого-хозяина специфическим вирусом, когда хозяин несет латентную форму этой инфекции, происходит не инфицирование, а активация латентной инфекции.

По-видимому, принципиального различия между профагом и провирусом вообще не существует, и в том случае, когда мы имеем дело с популяцией гусениц, несущих латентную инфекцию, и инфицируем гусеницу этим же вирусом, происходит не инфицирование, а активация латентной инфекции. Это положение может получить подтверждение только в ходе дальнейших исследований на молекулярном уровне.

Давно известны спонтанные вспышки вирусных инфекций насекомых в лабораторных и природных условиях. Эпизоотии вредных насекомых описаны нами в главе X. Работы многих исследователей были посвящены изучению спонтанного полиэдроза на выкормках тутового шелкопряда [8, 17, 18, 21, 22, 26, 29, 48].

В 50-х годах в литературе дискутировались причины возникновения спонтанного полиэдроза у тутового шелкопряда. Ямафуджи и его сотрудники в своих многочисленных работах [48—50] утверждали возникновение вируса de povо и приводили для доказательства этого положения свои экспериментальные данные. Другие исследователи — Смес [38], Криг [34], Тарасевич [22] считали возникновение вируса de povо невозможным и опровергали это положение также экспериментально. Мы не будем останавливаться подробно на изложении этих материалов, так как они представляют теперь только исторический интерес. Подробное описание работ Ямафуджи можно найти у Аруга [29]. В настоящее время хорошо известно, что спонтанные вспышки вирусных инфекций могут возникать в результате активации латентной инфекции насекомого.

До сих пор неизвестно в какой форме существует латентная инфекция у насекомых. По аналогии с фагом считается, что провирус у насекомого входит в тесный контакт с геномом клетки и таким образом может передаваться из поколения в поколение.

Так как латентная вирусная инфекция может быть изучена при ее активации, то наибольшее число работ в области латентных инфекций у насекомых посвящено условиям, активирующим латентные инфекции.

Многими авторами было замечено, что различные факторы активируют латентную вирусную инфекцию насекомых: повышенная и пониженная температура, повышенная плотность содержания гусениц, несвойственный насекомым корм, различные физические и химические воздействия. Особенно многочисленными были работы по активации ядерного полиэдроза у тутового шелкопряда [1, 4, 11, 12, 14, 33, 41], и большая часть этих работ описана нами в главе V.

Аруга [29] подробно описал работы по индукции вируса ядерного полиэдроза у тутового шелкопряда, проведенные им и другими исследователями в Японии, а также сделал общий обзор работ, имеющих в этом направлении.

Штейнхауз [40] предложил термин «стресс» для определения экологических, физических, биохимических факторов, изменяющих взаимоотношения в системе «насекомое — микроорганизм». Штейнхауз изучил влияние целого ряда факторов на активацию латентных вирусных инфекций насекомых. Так, например, он показал, что фактор «скученности» играет важную роль в активации латентной вирусной инфекции насекомых. Такую зависимость можно продемонстрировать на примере непарного шелкопряда. На рис. 38, в приводится график, показывающий прямую корреляцию между числом погибших гусениц и площадью, которую они занимают [25].

Особенно много работ посвящено влиянию повышенной и пониженной температур на активацию латентной инфекции у насекомых.

Так, Ваго [45] наблюдал увеличение числа случаев вирусной инфекции среди гусениц тутового шелкопряда, которые выращивались при высокой температуре и высокой влажности. Температура инкубации гусениц тутового шелкопряда контролирует появление цитоплазматического полиэдроза у этого насекомого. Значительно больше случаев полиэдроза наблюдается при 30°, чем при 25°.

Японские авторы показали, что тетра- и поливольтинные расы являются более устойчивыми к ненормальным окружающим условиям, чем одно- и бивольтинные расы.

Во многих работах была показана активация вирусной инфекции насекомых под влиянием пониженной температуры. Начиная с 1925 г. японские авторы изучили влияние пониженных

температур на ядерный и цитоплазматический полиэдроз и пришли к выводу, что степень индукции полиэдроза с помощью холодной обработки зависит от нескольких факторов: 1) температуры, 2) различий в расах и штаммах, 3) различий в стадии развития гусениц, 4) различий в условиях питания гусениц.

Эти данные были подтверждены работами Гершензона [3], Карпова [8], Ландау [15], Заринь и др. [6], Орловской [19]. Имеются и отрицательные данные по влиянию повышенных и пониженных температур на активацию вирусных инфекций у насекомых. Меньше сообщений о влиянии влажности на активацию латентной инфекции. Прямую корреляцию между высокой влажностью и появлением вирусных эпизоотий наблюдал Веллис у непарного шелкопряда, (*P. dispar*) [47], Ваго и Кейрол — у совки-гаммы (*Plusia gamma*) [46], Хэрвилл — у калифорнийского дубового шелкопряда (*Phrigamida californica*) [32], Ширмаи — у непарного шелкопряда и американской белой бабочки [43], Айзава и Сато — у тутового шелкопряда [27] и др.

Гершензоном [4] было показано, что продолжительное хранение грены (яиц) тутового шелкопряда в холодильнике значительно активирует ядерный полиэдроз у гусениц, вылупившихся из этой грены. Такая же закономерность наблюдалась нами при хранении яиц непарного шелкопряда (рис. 38, а).

С помощью метода иммунофлуоресценции Ермакова [5] установила, что в процессе хранения и инкубации грены в ней значительно возрастает количество специфического антигена полиэдров, причем количество виропластов и «мелких» полиэдров уменьшается, а число крупных полиэдров увеличивается. Был сделан вывод о развитии полиэдров из виропластов в процессе инкубации и хранения грены тутового шелкопряда.

Влияние несвойственного гусеницам корма на активацию латентной инфекции описано нами в главе V. Большинство авторов приходят к выводу о том, что несвойственный насекомым корм или изменение в соотношении питательных веществ в корме активирует латентную инфекцию у насекомых. Однако имеются и отрицательные данные. Так, например, не удалось вызвать вирусную инфекцию у гусениц *Peridroma* и *Junonia* при скармливании им растений, которыми они обычно не питаются (салата, татарника и люцерны для *Junonia* и попутника для *Peridroma* [42]).

Японские исследователи подробно изучили индукцию вирусных заболеваний, главным образом у тутового шелкопряда, под действием различных стрессоров — изменений температуры, Уф-радиации, X-лучей, вибрации.

Прямые опыты по голоданию гусениц в большинстве случаев свидетельствовали об отсутствии эффекта голодания на активацию латентной инфекции у насекомых [42].

Штейнхауз и Дайнинн [42] не получили значительного увеличения спонтанной вирусной инфекции у гусениц *Peridroma*

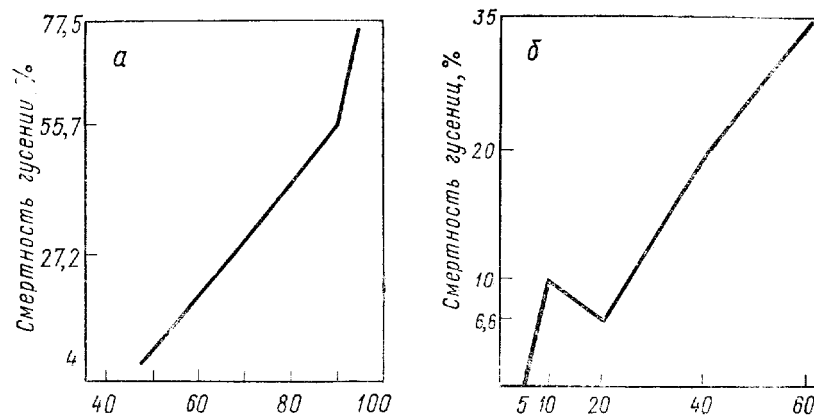


Рис. 38. Влияние различных факторов на активацию латентной инфекции у непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*)

а — влияние продолжительности хранения яиц, б — влияние «скученности» (на оси абсцисс — число гусениц в опыте)

margaritosa при экспозиции их Уф-лучам. Аруга и Йошитака [28] не могли индуцировать ни ядерный, ни цитоплазматический полиэдроз у гусениц тутового шелкопряда при экспозиции их к Уф-лучам. Наоборот, Криг [35] получил активацию ядерного полиэдроза у рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer*) под влиянием Уф-облучения. У пилильщика *Neodiprion sertifer* повышение фона солнечной радиации способствовало активации ядерного полиэдроза [37]. Милосердовой и др. [16] была показана возможность активации Уф-лучами латентной инфекции вирусов ядерного полиэдроза тутового и китайского дубового шелкопрядов в культуре тканей яичников и семенниковых цист куколок этих насекомых.

Рындовская [20] изучала влияние различных доз полиэдров и гранул на процесс активации латентной инфекции у гусениц американской белой бабочки, и ею были установлены любопытные факты. В контроле, где гусеницы не были инфицированы, резкая вспышка заболевания наблюдалась на 13-й день после начала опыта (день инфицирования опытных вариантов). Гибель гусениц составляла около 50%. При инфицировании гусениц различными дозами гранул такая же вспышка на 13-й день гранулеза появилась при дозе 26×10^3 гранул/мл и меньших дозах — 26×10^2 , 260 и 26 гранул/мл.

При инфицировании гусениц различными дозами полиэдров вспышка заболевания наблюдалась только в случае самой малой дозы — 23 пол/мл, и то не на 13-й, а на 14-й день, и выражалась меньшим число погибших гусениц (35% против 50%).

Таким образом, взаимоотношения инокулируемых, специфических для насекомого-хозяина вирусов и латентной инфекции этих же вирусов в одинаковых условиях опыта, являются разными и зависят от вида вируса и дозы инфицирования.

Аруга и Йошитака наблюдали активацию полиэдроза при экспозиции гусениц к X-лучам только в случае сочетания этой обработки с действием пониженной температуры [28]. По-видимому, влияние различного рода радиации в значительной степени зависит от дозы экспозиции. Карпов подробно изучил действие X-лучей на активацию вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда и показал, что при дозе облучения яиц 1000—5000 рад и охлаждении их при 1—2° в течение 1—3 суток наблюдается активация латентной инфекции [8, 9]. Ермакова [5] наблюдала увеличение количества антигена полиэдров при облучении яиц X-лучами в дозе 2×10^3 — 5×10^3 рад. У американской белой бабочки γ -лучи неизменно вызвали активацию латентной инфекции гусениц во всех исследованных популяциях Молдавии [24]. Как мы уже говорили выше, очень большое число работ японских исследователей было посвящено действию различных химикалий на активацию латентной инфекции у насекомых. Формалин 1—8%-ный, перекись водорода, нитрит и гипонитрит, различные оксиды, продукты деполимеризации ДНК и другие соединения индуцировали ядерный и цитоплазматический полиэдроз у тутового шелкопряда [48]. Эти же химикалии не активировали ядерный полиэдроз в опытах Танада [44], Крига [34], Тарасевич [23], Бергольда [30], Залмонзон [7], Нейлсон [36], Бирд [31].

Карпов и др. [10] индуцировали ядерный полиэдроз у охлажденных куколок тутового шелкопряда под влиянием растворов пепсина, панкреатической и щелочной ДНК-азы (41,7—53,7%) и в значительно меньшей степени при введении трипсина (11,7%). Частота ядерного полиэдроза в контроле составила 2,8—0,4%.

Кишко и др. [13] было подробно изучено действие различных ферментов и белковых препаратов на активацию латентной инфекции у тутового шелкопряда. Было показано, что специфическая щелочная и панкреатическая ДНК-азы вызывают активацию вируса ядерного полиэдроза у куколок тутового шелкопряда породы УС-1 и гибрида УС-1 \times Б2. Частота индукции, выраженная в процентах гибели гусениц, составляла 26,5—24,5% в первом и 58,1—47,0% во втором случае. Панкреатическая РНК-аза не обладала подобным действием.

Пепсин и проназа активировали латентную инфекцию у куколок тутового шелкопряда при предварительном их охлаждении.

Химотрипсин, пепсин, тромбин, сучужный фермент, белковые препараты — инсулин, глутелин, лактальбумин, яичный альбумин, полиэдрический белок, бычий сывороточный альбумин, соевый ингибитор трипсина не обладали индуцирующими свойствами.

Авторы предполагают, что действие щелочной ДНКазы заключается, по-видимому, в деградации хромозомного материала насекомого, что в свою очередь способствует освобождению провируса от генома хозяина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев А. Г. 1973. Желтуха тутового шелкопряда и ее генетическая профилактика. Автореф. докт. дисс. М.
2. Гершензон С. М. 1961. Журн. общей биол., 22, 1, 32.
3. Гершензон С. М. 1954. Тезисы докл. 3-й экол. конф., 1, 44. Киев.
4. Гершензон С. М. 1959. Материалы Междунар. конф. патол. насеk. и биол. методы борьбы с вредит. Прага, 1958.
5. Ермакова Г. И. 1969. О полиэдренном антигене в яйцах тутового шелкопряда, В. mori L. Канд. дисс. М.
6. Заринь И. А., Берзиня И., Витола Р. 1973. Тезисы докл. Всес. межвуз. конф. по ветерин. вирусол., ч. II, стр. 158. М.
7. Залмонзон Е. С. 1952. Материалы по вопросу о взаимодействии вирусов и ферментов. Автореф. канд. дисс. М.
8. Карпов А. Е. 1963. Допов. АН УРСР, № 5, 661.
9. Карпов А. Е. 1958. Допов. АН УРСР, № 9, 1015.
10. Карпов А. Е., Гашко Г. П., Золотаренко А. И. 1968. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
11. Карпов А. Е., Золотаренко А. И. 1973. Тезисы докл. III Всес. межвуз. конф. по ветерин. вирусол., ч. II, стр. 158. М.
12. Карпов А. Е., Карабаш Ю. А. 1973. Там же, стр. 163.
13. Кишко Л. Г., Карпов А. Е., Токарчук Л. В., Гашко Г. П. 1972. Микробиол. журн., 34, 1, 22.
14. Князева Н. А., Карпов А. Е. 1973. Тезисы докл. III Всес. межвуз. конф. по ветерин. вирусол., ч. II, стр. 161. М.
15. Ландау С. М. 1969. Микробиол. журн., 31, 5, 499.
16. Милосердова В. Д., Карпов А. Е., Ландау С. М. 1966. Микробиол. журн., 28, 2, 67.
17. Михайлов Е. Н. 1950. Шелководство. М., Сельхозгиз.
18. Ованесян Т. Т. 1973. Ядерный полиэдроз тутового шелкопряда в Грузии. Автореф. докт. дисс. Тбилиси.
19. Орловская Е. В. 1973. Тезисы докл. III Всес. межвуз. научн. конф. по ветерин. вирусол., ч. II, стр. 160. М.
20. Рындовская Ю. Л. 1972. О двойной вирусной инфекции у американской белой бабочки, *Nyctantia cunea* Drury. Автореф. канд. дисс. М.
21. Сиротина М. И., Чалая М. Ф. 1956. Допов. АН УРСР, № 2, 177.
22. Тарасевич Л. М. 1948. Бюлл. эксп. биол. и мед., 26, 3, 132.
23. Тарасевич Л. М. 1959. Физиологические условия размножения вируса полиэдрической болезни тутового шелкопряда. Автореф. докт. дисс. М.
24. Тарасевич Л. М., Кириллова Г. Н., Трофимова Т. И. 1970. Садовод., виноград. и виноделие Молдавии, № 12, 38.
25. Тарасевич Л. М., Алашеева С. В. 1975. Вирусы насекомых. М., «Наука».
26. Штейнхауз Э. А. 1952. Патология насекомых. Пер. с англ. М., ИЛ.
27. Aizawa K., Sato T. 1961. Cit. from. [29].
28. Aruga H., Joshitake N. 1961. Jap. J. Appl. Entomol. Zool., 5, 46.
29. Aruga H. 1963. Insect. Pathol., 1, Ed. Steinhaus E. A.
30. Bergold G. H. 1958. In «Handbuch der Virusforschung», 4, 60. Vienna.
31. Bird F. T. 1955. Canad. Entomol., 87, 124.
32. Harville. 1955. Microentomology, 20, 83.
33. Jakues R. P. 1961. J. Insect Pathol., 3, 47.
34. Krieg A. 1956. Arch. Ges. Virusforsch., 6, 5, 472.
35. Krieg A. 1955. Naturwissenschaften, 42, 589.

36. Neilson M. M. 1964. J. Insect Pathol., 6, 1, 41.
37. Smirnov N. A. 1961. J. Insect Pathol., 3, 29.
38. Smith K. M. 1952. Biol. Rev., 27, 3, 347.
39. Smith K. M. 1967. Insect Virology, Acad. Press., N.-Y.—Ld.
40. Steinhaus E. A. 1956. Proc. Intern. Congr. Entomol. 10th, Montreal, 4, 725.
41. Steinhaus E. A. 1960. J. Insect Pathol., 2, 327.
42. Steinhaus E. A., Dineen J. P. 1960. J. Insect Pathol., 2, 55.
43. Szirmai J. 1957. Acta Microbiol. Acad. Sci. Hungr., 4, 30.
44. Tanada J. 1951. Cit. from [29].
45. Vago C. 1951. Rev. Can. Biol., 10, 299.
46. Vago C., Cayrol R. 1955. Ann. Inst. Natl. Rech. Agr., ser. C., 6, 431.
47. Wallis R. C. 1957. J. Econ. Entomol., 50, 580.
48. Yamafuji K., Rosa J. 1944. Biochem. Zeitschr., 317, 1—2, 80.
49. Yamafuji K., Joshikawa F., Mukai J., Sato M. 1957. Enzymologia, 18, 2, 125.
50. Yamafuji K., Fuji S., Akita T. 1950. Enzymologia, 14, 1, 24.
51. Yokohama S., Yamafugii R. 1960. Cit. from [29].

СМЕШАННЫЕ ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ
НАСЕКОМЫХ

Смешанные вирусные инфекции хорошо известны среди всех представителей живого мира — человека, животных, растений, бактерий [1, 2, 3, 5, 8, 11, 12, 13, 20, 21, 26, 28]. В этом отношении насекомые не являются исключением. Можно назвать большое число насекомых (не менее 100 видов), у которых встречаются не один, а два и иногда три вида вирусов. В природных условиях не исключена также возможность проникновения в насекомые чужеродных вирусов, которые не поражают их, но могут тем или иным образом влиять на течение специфической вирусной инфекции насекомого-хозяина. Изучение взаимоотношений между различными вирусами в организме насекомого-хозяина представляет не только научный, но и большой интерес для практики биометода.

Далеко не безразлично, как будут складываться отношения между вирусами: будут ли они суммироваться и усиливать свое действие, будут ли интерферировать или размножаться независимо. От этих отношений во многом будет зависеть конечный результат применяемых на практике вирусных препаратов, направленных против определенных видов вредителя.

Если изучение взаимоотношений вирусов в одном организме насекомого-хозяина на уровне вида имеет непосредственный выход в практику биометода, то изучение этих взаимоотношений на субклеточном и молекулярном уровнях может существенно пополнить наши знания в области путей и способов репродукции вирусов вообще.

Приведем список некоторых насекомых из отряда чешуекрылых (Lepidoptera), у которых известны два и более вирусов (табл. 14).

В табл. 14 мы перечислили лишь небольшую часть насекомых, у которых обнаружены два и более вирусов, однако уже из этого перечня видно, что двойные и тройные вирусные инфекции присущи самым различным семействам насекомых из отряда чешуекрылых. Двойные инфекции известны и среди насекомых, принадлежащих к другим отрядам. При смешанной инфекции чаще всего встречаются сочетания ядерного и цитоплазматического полиэдрозов или ядерного полиэдроза и гранулеза. Сочетания других видов вирусных инфекций встречаются реже, но,

Таблица 14
Насекомые, поражаемые несколькими видами вирусов

Насекомое	Семейство	Вирус	Локализация вируса, тип нуклеиновой кислоты
<i>Adoxophyes orana</i>	Tortricidae	Полиэдрозы ядерный	Ядро, ДНК
<i>Aglais urticae</i>	Nymphalidae	цитоплазматический ядерный	Цитоплазма, РНК
<i>Agrotis segetum</i>	Noctuidae	цитоплазматический ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Ядро, ДНК
		Гранулез	Цитоплазма, РНК
		Полиэдрозы	Цитоплазма, ДНК
<i>Arctia caia</i>	Arctiidae	ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
<i>Bombyx mori</i>	Bombycidae	ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
<i>Cadra cautella</i>	Phycitidae	ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
		Гранулез	Цитоплазма, ДНК
<i>Celerio euphorbiae</i>	Sphingidae	Ядерный полиэдроз	Ядро, ДНК
		Цитоплазматический полиэдроз	Цитоплазма, РНК
<i>Chilo suppressalis</i>	Crambidae	Гранулез	Цитоплазма, ДНК
		Радужный вирус	Цитоплазма, ДНК
<i>Chorizagrotis auxiliaris</i>	Noctuidae	Полиэдрозы ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
		Гранулез	Цитоплазма, ДНК
		Вирус оспы	Цитоплазма, ДНК
<i>Galleria mellonella</i>	Galleridae	Полиэдрозы ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
		Вирус дензонуклеоза	Ядро, ДНК
<i>Heliothis zea</i>	Noctuidae	Полиэдрозы ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
		Гранулез	Цитоплазма, ДНК
<i>Hyphantria cunea</i>	Arctiidae	Полиэдрозы ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
		Гранулез	Цитоплазма, ДНК
<i>Yponomeuta cecropia</i>	Nymphalidae	Полиэдрозы ядерный	Ядро, ДНК
		цитоплазматический	Цитоплазма, РНК
		Гранулез	Цитоплазма, ДНК

Таблица 14 (продолжение)

Насекомое	Семейство	Вирус	Локализация вируса, тип нуклеиновой кислоты
<i>Malacosoma neustria</i>	Lasiocampidae	Полиэдросы ядерный цитоплазматический	Ядро, ДНК Цитоплазма, РНК
<i>Operophtera brumata</i>	Geometridae	Полиэдросы ядерный цитоплазматический Вирус оспы	Ядро, ДНК Цитоплазма, РНК Цитоплазма, ДНК
<i>Phalera bucephala</i>	Notodontidae	Полиэдросы ядерный цитоплазматический	Ядро, ДНК Цитоплазма, РНК
<i>Pieris rapae</i>	Pieridae	ядерный цитоплазматический	Ядро, ДНК Цитоплазма, РНК
<i>Porthetria dispar</i>	Limantriidae	ядерный цитоплазматический	Ядро, ДНК Цитоплазма, РНК
<i>Pyrausta anastomosis</i>	Notodontidae	ядерный Гранулез	Ядро, ДНК Цитоплазма, ДНК
<i>Tineola bisselliella</i>	Tineidae	Полиэдросы ядерный цитоплазматический	Ядро, ДНК Цитоплазма, РНК
<i>Trichoplusia ni</i>	Noctuidae	ядерный цитоплазматический Гранулез	Ядро, ДНК Цитоплазма, РНК Цитоплазма, ДНК
<i>Wiseana cervinata</i>	Pyalidae	Ядерный полиэдроз Радужный вирус	Ядро, ДНК Цитоплазма, ДНК

по-видимому, это происходит только вследствие более трудной диагностики вирусов, не образующих включений. Мы уверены, что в недалеком будущем список смешанных вирусных инфекций насекомых существенно пополнится.

Когда в одном организме насекомого встречаются два вида вирусов, относящихся к различным таксономическим группам, имеющим различный тип инфекционной нуклеиновой кислоты, форму вириона, локализацию в клетках и тканях, это не вызывает особого удивления, так как в этом случае у вирусов могут быть разные пути проникновения в клетки и разные пути репродукции.

К такому типу вирусов относятся сочетания ядерного и цитоплазматического полиэдрозов у насекомых. Вирусы ядерного полиэдроза относятся к роду *Vasculovirus*, содержат ДНК, размножаются в ядре и поражают соединительные ткани насекомых. Вирусы цитоплазматического полиэдроза относятся к груп-

пе *Reovirus*, они икосаэдрические по форме, содержат РНК и поражают цитоплазму кишечного эпителия насекомого. Гораздо труднее представить себе, как могут одновременно уживаться в одном организме насекомого такие вирусы, как ядерный полиэдроз и гранулез, радужный вирус и гранулез, гранулез и вирус оспы. Все эти вирусы — ДНК-содержащие. Вирусы гранулеза, радужный вирус и вирус оспы локализуются в цитоплазме и различаются по своей структуре.

Интереснейшие вопросы взаимоотношений различных вирусов в одном организме насекомого изучены пока совершенно недостаточно. Рындовская [9] приводит список, состоящий из 13 насекомых, у которых изучался характер взаимоотношений вирусов. Эти исследования проводились главным образом на уровне вида и преследовали цель ответить на вопрос о конечном эффекте этих взаимоотношений.

Только в последнее время смешанные вирусные инфекции насекомых стали изучаться на субклеточном уровне с помощью электронной микроскопии ультратонких срезов пораженных гусениц [9, 4, 23, 27].

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ВИРУСОВ НАСЕКОМОГО-ХОЗЯИНА

Характер взаимоотношений вирусов при смешанной инфекции сводится в основном к трем типам — синергизму, интерференции и независимому размножению. Анализ имеющейся литературы показывает, что у насекомых эти отношения складываются чаще по типу интерференции и независимого размножения, чем по типу синергизма. Приведем несколько примеров, характеризующих различные типы взаимоотношений вирусов.

Аруга [22] наблюдал интерференцию вирусов в чистых линиях и гибридах тутового шелкопряда. Гексагональные полиэдры, введенные гусеницам раньше тетрагональных, подавляли развитие последних. Этот автор считает, что интерференция двух штаммов вируса контролируется возрастом насекомого и вирулентностью вируса. Так, например, по данным Аруга, цитоплазматический вирус соснового японского шелкопряда (*Dendrolimus spectabilis*), который является инфекционным для гусениц тутового шелкопряда I—II возраста, интерферирует с тетрагональными полиэдрами этого насекомого. В IV и V возрастах вирус *D. spectabilis* не интерферирует с вирусом ядерного полиэдроза тутового шелкопряда и не инфицирует его.

У гусениц американской белой бабочки тетрагональные полиэдры оказались более вирулентными, чем гексагональные, и вытесняли последние при смешанном инфицировании насекомых двумя этими формами полиэдров [27]. Сидор [31] считает гранулы *Pyrausta anastomosis* более вирулентными, чем полиэдры, так

как в его экспериментах при инфицировании гусениц вирусом полиэдроза они погибали от собственного гранулеза.

Интерференцию между вирусами ядерного полиэдроза и гранулеза наблюдал у еловой хвоевертки (*Choristoneura fumiferana*) Бирд [24]. При одновременном инфицировании двумя вирусами большинство гусениц погибало от вируса полиэдроза, который был более вирулентным и имел более короткий инкубационный период. Этот же автор обнаружил интерференцию между вирусами ядерного и цитоплазматического полиэдрозов у лесной шатровой гусеницы (*Malacosoma disstria*), Стейрс и Бирд [32] при обработке деревьев суспензиями полиэдров, гранул и смесью этих двух вирусов против еловой хвоевертки (*Choristoneura fumiferana*) получили интерференцию в случае смешанной инфекции. В то время как гибель гусениц от полиэдроза составила в среднем 20,9%, от гранулеза — 26%, в случае смешанной инфекции полиэдрозом и гранулезом — только 7,4%. Известны случаи независимого размножения двух вирусов в организме насекомого. Так, например, Ваго [38] наблюдал одновременное размножение вирусов ядерного полиэдроза и гранулеза как в природных, так и в лабораторных условиях без какого-либо антагонизма между ними.

При одновременном инфицировании гусениц видов *Wiseana* младших возрастов вирусами ядерного полиэдроза и гранулеза и вирусами ядерного полиэдроза и оспы Мором, Калмаковым и Майлсом [30a] был получен различный эффект. Ядерный полиэдроз и гранулез приводили к явной интерференции, при этом гранулез полностью подавлялся, а процент смертности гусениц от ядерного полиэдроза снижался. В случае совместного применения вирусов ядерного полиэдроза и оспы чувствительность гусениц к инфекции вирусом оспы повышалась.

Швецова [19] изучала смешанную инфекцию полиэдроза и гранулеза у гусениц озимой и зерновой совок. В этом случае не наблюдалось ни интерференции, ни синергизма. Оба вируса размножались независимо. Смертность гусениц при моноинфекциях, так же как и при смешанном инфицировании, была почти одинаковой. При более низкой температуре содержания гусениц преобладал гранулез, при более высокой — полиэдроз. У капустной металловидки (*Trichoplusia ni*), относящейся к тому же семейству подгрызающих совок (*Noctuidae*), Лав и Пашке [30] также наблюдали независимое размножение вирусов ядерного полиэдроза и гранулеза. При инаktivации нагреванием одного из вирусов в смеси не обнаруживалось разницы в числе погибших гусениц (38; 38,7 и 38%). На гистологических срезах можно было наблюдать одновременное присутствие обоих вирусов.

Рындовская [9] подробно изучала взаимоотношения вирусов ядерного полиэдроза и гранулеза у американской белой бабочки (*Hypanthia cunea*). На большом количестве гусениц, взятых из природной популяции Молдавии, было показано, что оба

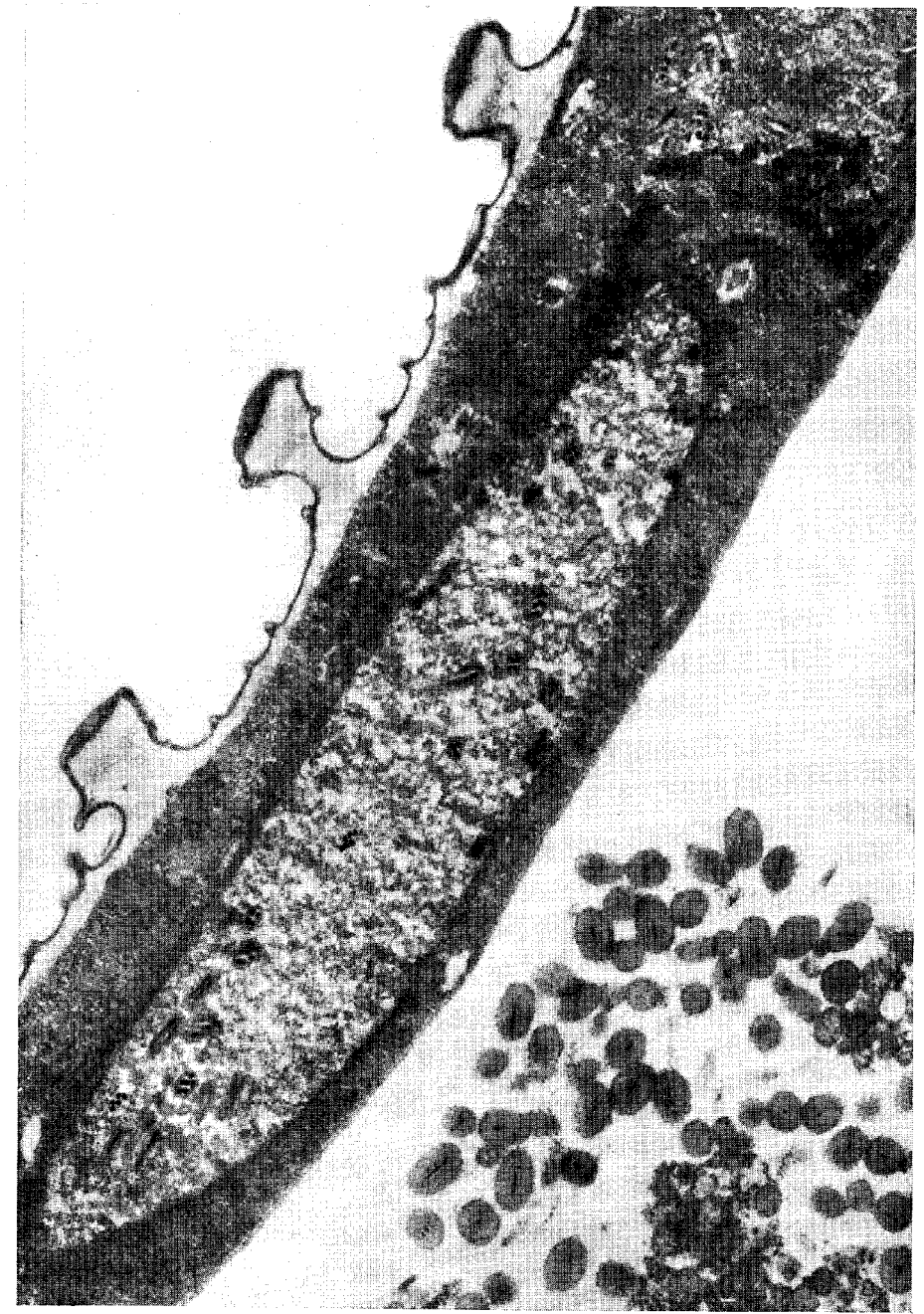


Рис. 39. Смешанная вирусная инфекция у гусениц американской белой бабочки, (*H. cunea*), при одновременном инфицировании их ядерным полиэдрозом и гранулезом. Видно образование пучков полиэдров в ядре трахеи. В межклеточном пространстве видны гранулы $\times 30\ 000$. Фото Г. Х. Дрампяна.

вируса присутствуют в одной и той же гусенице. В лабораторных условиях изучалась чувствительность гусениц к отдельному и смешанному инфицированию этими вирусами. В сравнительных экспериментах вирусы применялись в эквивалентных по нуклеиновой кислоте количествах [14]. Оказалось, что вирусы размножаются одновременно и независимо от преимущества во времени инфицирования тем или иным вирусом. Гистологическое и люминесцентно-микроскопическое изучение моно- и смешанной инфекции у американской белой бабочки показало, что патологические изменения в больных гусеницах при смешанном инфицировании соответствуют патологическим картинам, наблюдающимся при моноинфекции каждым из этих вирусов [18].

Более подробное электронно-микроскопическое исследование смешанной вирусной инфекции у американской белой бабочки было проведено Дрампяном и Тарасевич [4] (рис. 39). При смешанном инфицировании вирусами полиэдроза и гранулеза гусениц американской белой бабочки (*Hyrphantria cunea*) полиэдры и гранулы чаще всего развиваются в разных тканях и клетках. В небольшом числе случаев (5—8%) смешанную вирусную инфекцию можно наблюдать в одной клетке. Интересно, что в случае инфицирования одной клетки вирус гранулеза развивается в ядре вместе с вирусом полиэдроза. При этом оба вируса сохраняют свои основные свойства и проходят тот же цикл развития, как и при моноинфекции. Таким образом, у американской белой бабочки (*H. cunea*) можно считать доказанным независимое размножение двух вирусов.

Гораздо меньше известно о синергитическом действии двух вирусов. В 1954 г. на Гавайских островах Танада обнаружил присутствие полиэдров и гранул в популяции луговой совки — *Pseudaletia unipuncta* (Noctuidae). По данным Танада [35], смешанное инфицирование двумя вирусами гусениц увеличивало их чувствительность к заболеванию. Лучшим синергистом автор считает вирус гранулеза, который, будучи введенным несколько раньше вируса полиэдроза или будучи инактивированным при 80°, повышал процент смертности гусениц. Подобного действия не оказывал вирус полиэдроза. Недавно Танада и др. [37] изучили фактор, ответственный за синергитическое действие при смешанной вирусной инфекции гранул и полиэдров у луговой совки.

Гранулы растворялись в щелочном растворе, вирусные частицы удалялись центрифугированием, и раствор очищался на сефадексе G=200 с 4 М мочевиной. После гель-фильтрации синергитический фактор мог быть разделен дисковым электрофорезом с 8 М мочевиной на два компонента. Оба компонента обладали синергитической активностью. Авторы делают вывод, что за синергизм капсул ответствен их белок. В более ранней работе Танада и Хукухара [36] было показано, что фактор не входит в главную белковую фракцию, а составляет минорный компо-

нент. Эти авторы обходят молчанием вопрос о присутствии РНК в белке гранул, которая, как нам кажется, также может быть ответственной за синергизм [16].

Синергитическое действие ядерных полиэдров и гранул наблюдала также Мусамухамедова [7] при смешанном инфицировании восклицательной совки.

Изложенные выше литературные данные показывают, что при смешанных вирусных инфекциях у насекомых мы встречаемся с различными типами взаимоотношений вирусов. Данные разных авторов часто противоречивы. Так, например, у насекомых, относящихся к одному семейству подгрызающих совок (*Noctuidae*), описаны случаи как синергизма [35—37], так и независимого размножения полиэдров и гранул [19, 30]. При смешанном инфицировании ядерным и цитоплазматическим полиэдрами описаны случаи как интерференции, так и синергизма [33]. Эти противоречия следует объяснить прежде всего методическими причинами, когда авторы или совсем опускают количественную сторону вопроса, или сравнивают действие двух вирусов не в эквивалентных отношениях, что может полностью исказить результаты. Для эквивалентного сравнения действия полиэдров и гранул нами был предложен способ титрования вирусных включений по нуклеиновой кислоте (стр. 186). Другая причина противоречивых данных заключается, как нам кажется, в недостаточном количестве исследований на субклеточном и молекулярном уровнях. В природных условиях взаимоотношения вирусов будут зависеть от множества факторов: вирулентности вирусов, физиологического состояния насекомого, температуры окружающей среды и др. Поэтому выведение закономерностей в отношении смешанных вирусных инфекций будет возможным только при накоплении большого количества экспериментальных данных.

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ И ЧУЖЕРОДНЫХ ВИРУСОВ

Мы рассмотрим здесь влияние чужеродных вирусов, непатогенных для данного вида насекомого-хозяина, на специфическую вирусную инфекцию этого насекомого.

Имеется ряд сообщений о том, что чужеродный вирус может активировать специфическую латентную инфекцию насекомого. В природных условиях такая ситуация могла бы играть полезную роль, вызывая развитие эпизоотий среди вредных насекомых.

Лонгуорс и Канинхем [29] изучали активацию ядерного полиэдроза у гусениц *Aglaia urticae* под влиянием вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*). Полиэдры *A. urticae* и *P. dispar* морфологически различны, поэтому

причину гибели гусениц можно было легко диагностировать. При скормливания гусеницам *A. urticae* полиэдров непарного шелкопряда наблюдалась значительная смертность гусениц от специфического полиэдроза. Так, в четырех контрольных опытах средняя смертность гусениц составила 8,4%, а при скормливания чужеродных полиэдров — 42,4%. При скормливания гусеницам непарного шелкопряда полиэдров *A. urticae* погибло 71% гусениц, в контроле — 10%.

Полиэдры из погибших гусениц подвергали морфологической и серологической проверке, и было установлено, что происходила активация специфического вируса под влиянием чужеродного, а не перекрестного заражения. Интересно, что цитоплазматический полиэдроз, который в небольшом проценте присутствовал в обеих популяциях гусениц, не активировался под влиянием чужеродного ядерного полиэдроза.

Для выяснения того, какой компонент полиэдров был ответственным за активацию латентной инфекции, Лонгуорс и Канинхем был поставлен эксперимент по скормливания гусеницам *A. urticae* следующих веществ: яичного альбумина, вируса табачной мозаики (ВТМ), нативных ядерных полиэдров непарного шелкопряда и инактивированных полиэдров непарного шелкопряда (100°, 15 мин.).

В то время как в контроле и при скормливания гусеницам *A. urticae* яичного альбумина смертность гусениц составила 5,8 и 8,3%, при скормливания ВТМ, нативных и инактивированных полиэдров непарного шелкопряда она была 65,3, 69,7 и 62,8% соответственно. Указанные авторы на основании своих экспериментов пришли к выводу, что ответственным за активацию латентного вируса является белок полиэдров.

По данным Симоновой [10], полиэдры пядениц-шелкопрядов — серой волосистой (*Phigalia pedaria*), желтоусой (*Biston hispidaria*), бурополосой (*Biston hirtaria*) — активировали собственную латентную инфекцию у непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*), кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria*), златогузки (*Euproctis chrisorchoea*), и пяденицы-обдирало каемчатой.

Радужный вирус *Tirula* активировал собственные латентные инфекции у тутового шелкопряда и большой вошинной моли. Смертность гусениц от ядерного полиэдроза при инфицировании радужным вирусом достигала 60,7 и 40,0% соответственно [6].

В опытах Канюка [6а] вирус ядерного полиэдроза дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi*) активировал латентный вирус ядерного полиэдроза непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*).

Смис [34] наблюдал активацию специфической латентной инфекции цитоплазматического полиэдроза у насекомых под влиянием чужеродных вирусов ядерных полиэдрозов у зимней пяденицы (*Operophtera brumata*) при питании на листьях, сильно загрязненных ядерными полиэдрами *Vanessa cardui*, у *Bupalus*

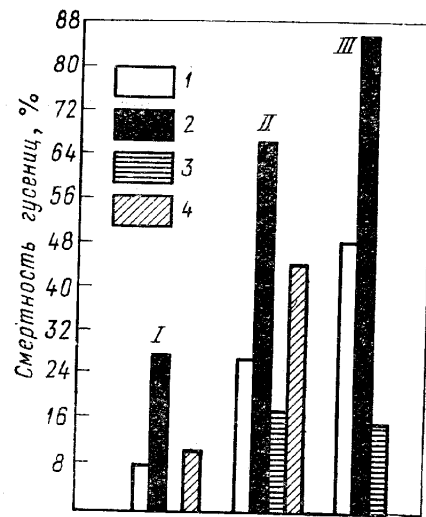


Рис. 40. Смешанная вирусная инфекция гусениц непарного шелкопряда (*Porthetria dispar*) своим и чужеродным вирусом

1 — контроль; 2 — ядерный полиэдроз *Porthetria dispar*; 3 — гранулез *Agrotis segetum*; 4 — ядерный полиэдроз *P. dispar* + гранулез *A. segetum*. I—III—номер опыта

Вirus ядерного полиэдроза американской белой бабочки (*H. cunea*) в дозе $1,7 \times 10^4$ пол/мл не активировал гранулез озимой совки (*Agrotis segetum*) в опытах Скопиной и Рындовской [9], но в дозе $3,4 \times 10^4$ пол/мл такая активация наблюдалась. Она не была специфической, так как выращивание гусениц озимой совки при повышенной температуре (36°) давало еще большую активацию гранулеза.

Вirus полиэдроза и гранулеза американской белой бабочки не активировали латентный полиэдроз у тутового шелкопряда и вирус хронического паралича у пчел [15]. Мы изучали влияние вирус гранулеза американской белой бабочки (*H. cunea*) и озимой совки (*A. segetum*) на инокулируемую и латентную инфекцию ядерного полиэдроза у непарного шелкопряда. Полиэдры и гранулы резко различаются по морфологии, поэтому причина гибели гусениц легко диагностировалась в световом (полиэдры) и электронном (гранулез) микроскопах. Оба вида гранул были непатогенны для непарного шелкопряда. Оба вида гранул инокулировались гусеницами в одинаковых условиях, в одинаковых дозах, одному возрасту гусениц. Однако действие их на

pinarius и у *Sphinx ligustri* — при питании на листьях, загрязненных ядерными полиэдрами *Nymphalis io*.

Грейс [25] наблюдал активацию цитоплазматического вируса в культурах клеток *Antherea eucalypti* при добавлении к культуральной среде гемолимфы, содержащей ядерные полиэдры тутового шелкопряда. Грейс, так же как Лонгуорс и Канинхем, предполагает, что индуцирующим агентом является белок ядерных полиэдров. Только при добавлении белка полиэдров тутового шелкопряда к вирусным частицам из этих полиэдров они вызывали инфекционный процесс и образование полиэдров [39, 40].

Мы предполагаем, что в описанных экспериментах важную роль должна играть РНК, присутствующая в ядерных полиэдрах многих насекомых (см. главу IX). Как было показано нами [16], РНК полиэдров связана с их инфекционностью.

ядерный полиэдроз непарного шелкопряда было совершенно различным.

Гранулы американской белой бабочки ускоряли активацию латентной инфекции ядерного полиэдроза непарного шелкопряда, и гибель гусениц наступала на несколько дней раньше, хотя в итоге общий процент гибели гусениц был одинаковым. Гранулы озимой совки, наоборот, неизменно подавляли инокулируемый и латентный вирусы ядерного полиэдроза у непарного шелкопряда [17]. На рис. 40 представлены результаты трех опытов по инфицированию гусениц непарного шелкопряда вирусом гранулеза озимой совки, специфическим вирусом ядерного полиэдроза и смешанной инфекцией полиэдроза и гранулеза.

В случае инфицирования гранулезом гусеницы погибали от специфического ядерного полиэдроза, но в значительно меньшей степени, чем в контроле и в варианте с заражением ядерным полиэдрозом.

Когда после длительного хранения кладок непарного шелкопряда активация специфического латентного вируса в контрольных вариантах опыта достигла 50% гибели гусениц (опыт 3), гранулы озимой совки уже не подавляли в тех же дозах ядерный полиэдроз непарника, однако активации собственного полиэдроза по-прежнему не наблюдалось.

Подавление вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда гранулами озимой совки не зависело от популяции и возраста гусениц, хотя в младших возрастах эта интерференция была более резко выражена.

Результаты наших экспериментов по влиянию двух видов гранул на ядерный полиэдроз непарного шелкопряда свидетельствуют об определенной специфичности их действия. Механизм этой специфики может быть решен дальнейшими исследованиями. Таким образом, чужеродные вирусы могут оказывать самое различное влияние на специфическую вирусную инфекцию насекомого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агол В. И. 1971. В сб. «Молекулярная биология вирусов». М., «Наука».
2. Адамс М. 1961. Бактериофаги. Пер. с англ. М., ИЛ.
3. Альтштейн А. Д., Кравченко А. Т., Воронина Г. С. 1964. В сб. «Материалы XVIII научн. сессии Ин-та вирусол. АМН СССР им. Д. И. Иванова», ч. 1, стр. 83. М.
4. Драпян Г. Х., Тарасевич Л. М. 1974. Биол. журн. Армении, 27, № 5, 57.
5. Жданов В. М., Коренблит Р. С. 1950. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол., № 9, 40.
6. Канюка В. Ю. 1965. Микробиол. журн., 27, 6, 77.
- 6а. Канюка В. Ю. 1974. Тезисы докл. Первой Киевской город. конф. по патологии членистоногих и биол. средствам борьбы с вредными организмами. Киев.
7. Мусамухамедова Е. Б. 1969. Вирусные заболевания восклицательной совки (*Agrotis exclamations* L.) и перспективы их использования в биологической борьбе. Автореф. канд. дисс. Л.

8. Раутенштейн Я. И., Москаленко Л. Н., Жунаева В. В. 1970. Микробиология, 30, 2, 358.
9. Рындовская Ю. Л. 1972. О двойной вирусной инфекции у американской белой бабочки, *Nurphantia cunea* Drury. Автореф. канд. дисс. М.
10. Симонова А. С. 1965. В сб. «Исследования по биологическому методу борьбы с вредит. сельск. и лесного хоз-ва», вып. 2, 50. Новосибирск, «Наука».
11. Стент Г. 1965. Молекулярная биология вирусов бактерий. Пер. с англ. М., ИЛ.
12. Сухов К. С. 1965. Общая вирусология. М., «Высшая школа».
13. Сюрин В. Н. 1973. III Всес. межвуз. конф. по ветеринарной вирусологии. М.
14. Тарасевич Л. М. 1971. Микробиол. пром-сть, № 11, 36.
15. Тарасевич Л. М., Рындовская Ю. Л., Бескина С. Р., Минкевич Н. И. 1973. Докл. ВАСХНИЛ, № 8, 37.
16. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф., Шведчикова Н. Г. 1966. В сб. «О природе вирусов». М., «Наука».
17. Тарасевич Л. М., Алашеева С. 1975. Вирусы насекомых. М., «Наука».
18. Уланова Е. Ф., Рындовская Ю. Л. 1972. Биол. науки, № 7, 13.
19. Швецова О. И. 1962. Энтотом. обзор., 13, 781.
20. Шмыглы В., Абрамова И. 1970. Картофель и овощи, № 7, 32.
21. Шубладзе А. К., Соловьев В. Д. 1950. Вопросы вирусологии, № 3, 31.
22. Aruga H. 1968. Proc. Joint. U. S.— Jap. Seminar. Fukuoka.
23. Bird F. T. 1959. J. Insect Pathol., 1, 406.
24. Bird F. T. 1969. Canad. J. Entomol., 12, 1269.
25. Grace T. D. C. 1962. Nature (Ld), 195, 4843, 788.
26. Hamilton R. J., Dodds J. A. 1970. Virology, 42, 1, 266.
27. Hukuhara T., Hashimoto J. 1966. Jap. J. Appl. Entomol. zool., 10, 149.
28. Koprowski H., Barbanti-Brodano G., Katz M. 1970. Nature, 225, 1045.
29. Longworth J. F., Cunningham J. C. 1968. Invert. Pathol., 10, 361.
30. Lowe R. E., Paschke J. D. 1968. J. Invert. Pathol., 12, 438.
- 30a. Moore S. G., Kalmakoff J., Miles J. A. R. 1974. New Zealand Journ. Zool., 1, 85.
31. Sidor C. 1965. «Topola». Bieten Jug. Nac. Kom. za topolu., 52, 54, 41.
32. Stairs G. R., Bird F. T. 1962. Canad. Entomol., 94, 9, 966.
33. Smith K. M. 1967. Insect Virology, Acad. Press. N. Y.— Ld.
34. Smith K. M. 1963. Insect Pathol., v. 1. N. Y., Acad. Press.
35. Tanada V. 1959. J. Insect Pathol., 1, 215.
36. Tanada Y., Hukuhara T. 1971. J. Invert. Pathol., 17, 1, 116.
37. Tanada Y., Himeno M., Omi E. M. 1973. J. Invert. Pathol., 21, 31.
38. Vago C. 1959. J. Insect Pathol., 1, 75.
39. Vaughn J., Faulkner P. 1963. Virology, 20, 3, 484.
40. Vaughn J. 1968. Current Topics in Microbiol. a Immunol., 42.

Глава девятая

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И СВОЙСТВА ВИРУСНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ НАСЕКОМЫХ И ВИРИОНОВ

Исследование природы вирусов началось с изучения их телец-включений, и прежде всего телец-включений, образующихся при ядерном полиэдросе тутового шелкопряда,— полиэдров. Вирусные включения *Baculovirus*, *Reovirus* и *Eutomorphovirus* содержат в своем составе вирионы, нуклеиновая кислота которых ответственна за инфекционные свойства этих вирусов. Вирусные включения и содержащиеся в них вирионы, как и вирусы, не образующие включений (*Iridovirus*, *Parvovirus*, *Enterovirus* и *Rhabdovirus*), являются по своей природе нуклеопротеидами. Большая часть фосфора вирусов принадлежит нуклеиновым кислотам — ДНК или РНК. У полиэдров и гранул *Baculovirus* в их белковом матриксе содержится вторая нуклеиновая кислота — РНК (вирионы содержат ДНК), функции которой до сих пор неизвестны [22].

При фракционировании полиэдров тутового шелкопряда на вирусные частицы, их мембраны и полиэдрический белок были получены данные о содержании основных элементов и соединений, входящих в эти структуры. Ниже дается состав полиэдров, вирионов и мембран (в %) вируса тутового шелкопряда [44]:

	Полиэдрический белок	Вирус	Вирусные мембраны
Азот	15,9	13,9	12,5
Фосфор	0,064	0,915	0,45
ДНК	—	7,9	0,8
Липиды *		0,2	1,3
Липиды **		4,0—7,5	
Углеводы		1,2	

* Липиды, растворимые в кипящем петролейном эфире.

** Липиды, растворимые в хлороформ-этанол.

Кроме фосфора в белок полиэдров входят сера, углерод, водород, хлор и зольные элементы. Нами была обнаружена в полиэдрах тутового шелкопряда (*Bombyx mori*), а затем и в полиэдрах дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi*) [19, 20] РНК. Далее присутствие РНК в полиэдрах и гранулах различных видов насекомых, содержащих ДНК-вирусы, было показано другими исследователями (табл. 15).

Таблица 15

Вирусные включения насекомых, содержащие оба типа нуклеиновых кислот (ДНК и РНК)

Насекомое-хозяин	Тип включения	Литературный источник
Тутовый шелкопряд (<i>Bombyx mori</i>)	Ядерные полиэдры	[15, 19, 33, 59]
Дубовый шелкопряд (<i>Antheraea pernyi</i>)	То же	[20]
Капустная металлоидка (<i>Trichoplusia ni</i>)	»	[60]
Хлопковая совка (<i>Heliothis zea</i>)	»	[56]
Свекловичная пяденица (<i>Spodoptera exigua</i>)	»	[61]
Сибирский шелкопряд (<i>Dendrolimus sibiricus</i>)	Гранулы	[31]
Озимая совка (<i>Agrotis segetum</i>)	»	[24]
Серая зерновая совка (<i>Hadena sordida</i>)	»	[1]
Капустная совка (<i>Barathra brassicae</i>)	Ядерные полиэдры	[14]
Капустная белянка (<i>Pieris brassicae</i>)	Гранулы	[14]
Репная белянка (<i>Pieris rapae</i>)	»	[14]
Непарный шелкопряд (<i>Porthetria dispar</i>)	Ядерные полиэдры	[11]
Американская белая бабочка (<i>Hyalphantria cunea</i>)	То же	[25]

СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ВКЛЮЧЕНИЙ И ВИРИОНОВ

Возможность выделения вирусных частиц из включений и изучение этих частиц открыли пути для исследования их нуклеиновых кислот.

Брейндл и Яровик [49] первыми показали наличие ДНК в вирусных частицах насекомых. Однако их работа осталась неизвестной широкому кругу читателей. Бергольд [47] с помощью разработанного им метода выделения вирусных частиц из полиэдров обнаружил в вирусных частицах тутового, а затем и непарного шелкопрядов ДНК.

Поскольку вирусные частицы обладали инфекционными свойствами для гусениц тутового и непарного шелкопрядов, был сделан вывод о том, что за инфекционность полиэдров ответственна ДНК вирусных частиц.

Нуклеотидный состав ДНК 11 вирусов насекомых изучил Виатт [117] (табл. 16). Анализ полученных данных позволил автору сделать вывод об отсутствии корреляции нуклеотидного

Таблица 16

Нуклеотидный состав ДНК вирусов насекомых

№ п/п	Насекомое-хозяин	Аденин	Тимин	Гуанин	Цитозин	$\frac{A+T}{G+C}$	Литературный источник
1	<i>Bombyx mori</i>	28,6 30,6 32,2	30,0 27,3—30,6 29,4	22,0 21,7 22,4	19,7 20,2 16,0	1,40 1,38—1,44 1,60	[117] [98] [33]
2	<i>Porthetria dispar</i>	21,2 21,55	20,05 30,07	30,05 23,07	28,25 20,30	0,71 1,07	[117] [107]
3	<i>Choristoneura fumiferana</i>	24,8	24,0	26,7	24,5	0,95	[117]
4	<i>Ptichopoda seriata</i>	26,7	25,7	24,4	23,2	1,10	[117]
5	<i>Malacosoma americanum</i>	29,2	23,0	22,5	20,2	1,34	[117]
6	<i>Malacosoma disstria</i>	29,2	23,5	21,9	20,3	1,36	[117]
7	<i>Colias philodice euritheme</i>	29,2	27,6	22,4	20,1	1,35	[117]
8	<i>Neodiprion sertifer</i>	32,3	30,3	19,5	17,8	1,67	[117]
9	<i>Cacoecia murinana</i>	32,1	30,5	19,7	17,9	1,67	[117]
10	<i>Choristoneura fumiferana</i>	32,8	32,4	13,4	16,4	1,87	[117]
11	<i>Tipula paludosa</i>	34,9	34,9	14,8	15,4	2,3	[109]
12	<i>Apis mellifera</i>	24	27,5 (урацил)	20	23	1,07	[37]
13	<i>Galleria mellonella</i>	30,1	29,3	22,05	13,4	1,43	[13]

Примечание. № 1—8, 13 — полиэдрические вирусы; № 9—10 — капсульные вирусы; № 11—12 — вирусы, не образующие включений.

состава с видом хозяина или с типом образуемых включений. Действительно, коэффициент специфичности ДНК вирусов насекомых широко варьирует (от 0,8 до 2,3) и не коррелирует с видовой принадлежностью хозяина. Так, у непарного шелкопряда и монашенки, принадлежащих к одному семейству *Lymantidae*, коэффициент специфичности ДНК вирусов значительно различается (0,71 и 1,07 соответственно). С другой стороны, почти одинаковый нуклеотидный состав имеет ДНК вирусов тутового шелкопряда, большой пчелиной моли и североамериканской желтушки (1,40, 1,43 и 1,35 соответственно), принадлежащих к разным семействам — *Bombycidae*, *Galleriidae* и *Pieridae*. Нуклеотидный состав ДНК вирусов насекомых не связан также с типом образуемых включений. Так, одинаковый коэффициент специфичности имеют ДНК из гранул пихтовой листовертки (1,67) и ядерных полиэдров, образующихся в кишечнике рыжего соснового пилильщика (1,67), относящегося не только к другому семейству насекомых, но и к другому отряду (пере-

пончатокрылые — Hymenoptera). Заманчиво было думать также, что тип нуклеиновой кислоты вирусных частиц коррелирует с местом локализации включений. Однако оказалось, что место локализации вируса не всегда определяет тип его нуклеиновой кислоты.

Наглядным примером этому могут служить радужные вирусы. Они не образуют включений, локализуются в цитоплазме и содержат в своем составе ДНК.

Количественное содержание нуклеиновых кислот в вирусных частицах вирусов насекомых очень высоко и достигает у некоторых видов вирусов 30%. Результаты определения ДНК в вирионах иногда варьируют для одного и того же вируса, что связано с разными методами очистки вирусов, экстракции и определения ДНК. В табл. 17 приводится список вирусов насекомых для которых известно содержание нуклеиновой кислоты.

Таблица 17
Содержание нуклеиновых кислот вирусов насекомых (в %)

Насекомое-хозяин	Тип НК вируса	Содержание НК	Литературный источник
<i>Bombyx mori</i>	ДНК	13 7,9	[43] [46]
<i>Lymantria dispar</i>	ДНК	15,2—16,6	[108]
<i>Porthetria dispar</i>	ДНК	16,0	[45]
<i>Tipula paludosa</i>	ДНК	30 12,4 16	[110] [109] [34]
<i>Sericesthis pruinosa</i>	ДНК	17,6	[51]
<i>Lambdina fiscellaria somnaria</i>	ДНК	7,9	[95]
<i>Aporia crataegi</i>	ДНК	9	[83]
<i>Dasychira pudibunda</i>	РНК	6,7	[82]
<i>Panonychus citri</i>	РНК	10,6	[55]
<i>Apis mellifera</i>	РНК	10—20	[37]
<i>Galleria mellonella</i>	ДНК	30	[90]

По-видимому, окончательное суждение о процентном содержании нуклеиновых кислот в вирусах насекомых можно будет сделать в дальнейшем, исходя из определений нескольких авторов, использующих разные методы исследований, но получивших сходные результаты.

Гораздо легче определить содержание нуклеиновых кислот в вирусных включениях насекомых, которые легко накопить в необходимых количествах и очистить. Таких определений было сделано немало. Зная процентное содержание нуклеиновой кислоты во включениях и содержание в них вирусных частиц, можно рассчитать процент нуклеиновой кислоты, приходящийся на

вирионы. Такие расчеты показывают, что имеющиеся данные не всегда совпадают с данными по содержанию фосфора во включениях. По-видимому, не весь фосфор включений принадлежит нуклеиновой кислоте.

Такое несовпадение результатов определения ДНК в вирионах и включениях особенно заметно для полиэдров *P. dispar*, *L. monacha* и *Spodoptera exigua* (табл. 18).

Таблица 18
Содержание ДНК вирусных включений насекомых (в %)

Насекомос-хозяин	Тип включения	Содержание НК	Литературный источник
<i>Bombyx mori</i>	Полиэдры	0,84 0,2 0,41	[64] [33] [31]
<i>Heliothis zea</i>	»	0,68	[56]
<i>Trichoplusia ni</i>	»	1,22	[60]
<i>Porthetria dispar</i>	»	1,29—2,54 0,4	[43] [11]
<i>Lymantria monacha</i>	»	1,73	[43]
<i>Spodoptera exigua</i>	»	2,37	[61]
<i>Sphinx populi</i> *	»	0,9	[118]
<i>Dendrolimus sibiricus</i>	Гранулы	0,59	[31]
<i>Agrotis segetum</i>	»	0,22	[24]
<i>Barathra brassicae</i>	Полиэдры	0,15—0,20	[14]
<i>Pieris brassicae</i>	Гранулы	0,41	[14]
<i>Agrotis sordida</i>	»	0,132	[1]

* У *Sphinx populi* содержится РНК.

Это может объясняться разными причинами, но особенно степенью чистоты препаратов вирусных частиц и вирусных включений. Наши данные по содержанию ДНК в полиэдрах тутового шелкопряда (0,41%) соответствуют 8,2% ДНК вирионов, что хорошо совпадает с данными Бергольда и Веллингтона [46].

В гранулах озимой совки (*Agrotis segetum*), по нашим данным, содержится 5,8% вирионов [29] и 0,22% ДНК. При пересчете на содержание ДНК вирионов мы получим 3,8%.

Для ДНК вирионов из гранул сибирского шелкопряда (*Dendrolimus sibiricus*) содержание ДНК выразится цифрой 11,8%.

Мы видим из приведенных данных, что содержание нуклеиновых кислот в вирусах насекомых варьирует, однако отчасти это объясняется, как мы уже указывали выше, различными методами подготовки материала для извлечения НК и самими

методами экстракции и определения НК [17, 102]. Изучение различных свойств нуклеиновых кислот вирусов насекомых и их структуры за последнее время значительно продвинулось вперед.

Ямафуджи [119] изолировал ДНК из вирусных частиц ядерных полиэдров тутового шелкопряда и показал присутствие двух компонентов ДНК с константами седиментации 35S и 44S. Автор пришел к выводу о двух структурных типах молекул ДНК, один из которых имеет линейную структуру (35S компонент), а другой — кольцевую (44S компонент).

О присутствии кольцевых молекул ДНК, изолированных из вирионов тутового шелкопряда наряду с линейными молекулами, сообщили одновременно Кок с сотрудниками, Шведчикова и Тарасевич [10, 32] на XIII Международном энтомологическом конгрессе. Согласно данным Кок, в препаратах ДНК вируса тутового шелкопряда присутствовали молекулы с молекулярным весом 10×10^6 и 100×10^6 дальтонов. Последние имели кольцевую форму. Полиэдроз у гусениц можно было вызвать и тем и другим типом молекул.

В препаратах ДНК из вируса гранулеза сибирского шелкопряда (*Dendrolimus sibiricus*) Шведчикова и др. наблюдали молекулы ДНК с молекулярным весом $70-80 \times 10^6$ дальтонов. Молекулярный вес молекул ДНК вычислялся с помощью электронно-микроскопических измерений длины нитей ДНК и подсчетом молекулярного веса по соответствующей формуле.

Онодера и др. [98] изолировали ДНК вируса тутового шелкопряда из вирионов в щелочном буфере и очищали ее на колонке из метилированного альбумина. Она показывала единственный пик, и ее константа седиментации была 13,1S. Изолированная ДНК была инфекционной при инъекции куколкам тутового шелкопряда в количестве 0,4 мкг ДНК на куколку. Из десяти инъектированных куколок три погибли от полиэдроза, т. е. 30%. Инфекционность полностью снималась при обработке инъектируемой ДНК (0,2 мкг на куколку) ДНК-азой, но не РНК-азой. Авторы делают вывод об инфекционности изолированной ДНК для куколок тутового шелкопряда. Температура плавления ($T_{пл}$) ДНК $86-87^\circ$, реакция с формальдегидом и термальная денатурация свидетельствовали о двунитчатой структуре ДНК. ДНК давала типичную адсорбционную кривую в УФ с максимумом адсорбции при 258 нм и минимумом при 232 нм. Отношение максимума к минимуму было равно 2. Сумма гуанина и цитозина составляла 41,9%. Полученная ДНК с $s_{20w} = 13,4S$ соответствовала молекулярному весу $1,8-2,2 \times 10^6$ дальтонов. Аллисон и Бурке [34] сообщили о молекулярном весе ДНК тутового шелкопряда, равном 76×10^6 дальтонам.

Таким образом, данные большинства авторов свидетельствуют скорее о высоком молекулярном весе ДНК вируса тутового шелкопряда.

Возможно, что молекулы небольшого молекулярного веса образуются при разрыве крупной молекулы на два, четыре и более фрагментов в процессе выделения ДНК [28].

ДНК вируса ядерного полиэдроза большой вошчинной моли (*Galleria mellonella*) близка к ДНК вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда. Она является двуспиральной и принадлежит к АТ-типу. Коэффициент ее специфичности равен 1,45. Количество ГЦ-пар составляет 40,4%, температура плавления $83,2^\circ$, плавучая плотность $\rho = 1,700$ г/см³. Молекулярный вес ДНК, по данным вискозиметрии, составляет 20×10^6 дальтонов. Однако при определении молекулярного веса ДНК методом электронной микроскопии найдены молекулы ДНК длиной 40—50 мк, что соответствует молекулярному весу $80-100 \times 10^6$ дальтонов. Некоторая часть молекул представлена кольцевыми формами. ДНК, изолированная из вирионов и полиэдров, при инъекциях гусеницам большой пчелиной моли в присутствии ДЕАЕ-декстрана вызывала ядерный полиэдроз. Инфекционность препаратов снималась ДНК-азой, но не РНК-азой [4].

Саммерс и Андерсон [108] изолировали ДНК из вирусных частиц гранул капустной металловидки (*Trichoplusia ni*) и сообщили, что молекулярный вес этой ДНК равен 140×10^6 дальтонов. Эти авторы изучили структуру выделенной ими ДНК.

Вирусные частицы выделялись из гранул мягкой щелочной обработкой и очищались на сахарозном градиенте или градиенте хлористого цезия. ДНК выделялась из вирусных частиц в основном горячей обработкой их (60° , 20 мин.) На-лаурил-саркозином и другими методами. ДНК, изолированная различными методами, имела одинаковый профиль седиментации.

Равновесное центрифугирование ДНК в щелочном растворе CsCl (рН 13,0) давало две зоны с плотностями 1,754 и 1,778 г/см³. Нейтральный сахарозный градиент показывал только одну зону ДНК, седиментирующую при 74S, но при низкой ионной силе наблюдались три зоны двунитчатой ДНК, соответствующие закрытым кольцам ДНК, менее правильным голым кольцам и линейной форме ДНК. Молекулярный вес линейной ДНК равнялся 100×10^6 дальтонов.

Изучая седиментацию ДНК из гранул *T. ni* и *Spodoptera frugiperda*, Саммерс и Андерсон [108] получили близкие, но не идентичные профили седиментации. При этом кольцевые формы ДНК седиментировали в 3—4 раза быстрее, чем линейные.

Ниже приводятся характеристики ДНК двух вирусов гранулеза, из которых видно различие в структуре молекул их ДНК:

	<i>Trichoplusia ni</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i>
Константа седиментации		
кольцевых молекул	74S	69S
линейных »	60S	57S
Температура плавления, $^\circ\text{C}$	69,3	74,5
Сумма Г + Ц	37,5	50,0

Зная процент содержания ДНК в гранулах озимой совки (*Agrotis segetum*), содержание вирусных частиц в гранулах и число гранул в определенной навеске очищенных гранул (электронно-микроскопические подсчеты), нами высчитан молекулярный вес ДНК вирионов из гранул озимой совки. Он оказался равным 120×10^6 дальтонов [29]. Этот метод определения ДНК позволяет избежать процедур, которые могут привести к разрыву крупной молекулы на более мелкие фрагменты [30]. Полученный нами молекулярный вес ДНК вируса гранулеза озимой совки близко совпадает с молекулярным весом ДНК вируса капустной металлоидки, сообщенным Саммером и Андерсоном ($100-140 \times 10^6$ дальтонов). Оба вида насекомых (озимая совка и капустная металлоидка) относятся к одному семейству подрывающих совков (*Noctuidae*). Молекулярный вес ДНК озимой совки, о котором мы сообщили ранее (30×10^6 дальтонов), по-видимому, был фрагментом крупной молекулы, распавшейся на более мелкие фрагменты [103]. Не исключено, однако, что молекулы ДНК являются гетерогенными. Плавающая плотность ДНК вируса ядерного полиэдрома *Spodoptera littoralis* определена в $1,704 \text{ г/см}^3$ [81], ДНК вируса *Немерогампа pseudotsugata* — $1,710 \text{ г/см}^3$ [50].

Труффан и др. [111] изолировали ДНК из вируса дензонуклеоза. ДНК извлекалась из вируса при комнатной температуре (по Вейлю) фенолом с добавлением трихлоруксусной кислоты, калия и версена. Константа седиментации ДНК = 17S, что соответствует молекулярному весу 4,5 млн. дальтонов. Сумма $\Gamma + \Pi = 37-40\%$. Реакция с 1,8-ным формальдегидом была отрицательной. Оптическая плотность ДНК для 260/280 составляла 1,82 и для 260/230 — 1,78. Точка плавления ДНК находилась при $84,5^\circ$.

Курстак и др. [87] изолировали ДНК этого же вируса из тщательно очищенных вирионов. Молекулярный вес ДНК определяли электронно-микроскопически. Средняя длина молекул ДНК оказалась равной 1,69 мк, что соответствует молекулярному весу $1,6 \times 10^6$ дальтонов.

Все исследованные молекулы были линейны, кроме одной, которая оказалась кольцевой. Дальнейшее исследование показало, что вирионы содержат одноцепочечные молекулы ДНК, но разной полярности. Некоторые содержат плюс-, другие минус-цепочку. Эти цепочки комплементарны и вне вируса нередко образуют двухцепочечные молекулы.

ДНК радужных вирусов *Chilo*, *Sericesthis* и *Tipula* извлекалась из вирусных частиц, очищенных в градиенте плотности сахарозы до гомогенного состояния ($s_{20,w} = 2200S$) фенольно-детергентным методом.

Изолированная ДНК анализировалась в аналитической ультрацентрифуге, в электронном микроскопе и методом термальной и щелочной денатурации. Кривые термальной денатурации ДНК всех трех вирусов были типичными для двунитчатой

ДНК. Данные термальной и щелочной денатурации ДНК, плавающей плотности в градиенте хлористого цезия и электронная микроскопия молекул ДНК позволили дать основные характеристики ДНК трех радужных вирусов. В табл. 19 приводятся данные, полученные Бэллет и Инман [38].

Таблица 19
Свойства ДНК трех радужных вирусов [38]

Свойство ДНК	<i>Chilo suppressalis</i>	<i>Sericesthis pruinosa</i>	<i>Tipula paludosa</i>
$T_{пл}, ^\circ\text{C}$	$81,3 \pm 0,15$	$82,0 \pm 0,6$	$82,6 \pm 0,5$
$\Gamma + \Pi$ (из $T_{пл}$)	29,3	31,0	32,4
$\Gamma + \Pi$ (из плавающей плотности), %	28,0	31,0	32,0
$\Gamma + \Pi$ (среднее), %	28,7	31,0	32,2
Плавающая плотность, г/см^3	$1,636 \pm 0,001$	$1,639 \pm 0,001$	$1,630 \pm 0,001$
Константа седиментации $S_{20,w}$	62	63	61
Средняя длина молекулы, мк	52 ± 5	56 ± 5	—
Молекулярный вес ДНК, млн. дальтонов	135 ± 14	147 ± 11	155 ± 19

Таким образом, ДНК всех трех радужных вирусов оказались хотя и не идентичными, но очень близкими по свойствам. Следует заметить, что насекомые-хозяева этих вирусов относятся не только к разным семействам, но и к разным отрядам. Так, рисовая стеблевая огневка (*Chilo suppressalis*) принадлежит к чешуекрылым (*Lepidoptera*) сем. *Crambidae*; жук *Sericesthis pruinosa* — к жесткокрылым (*Coleoptera*) сем. *Scarabaeidae*, а болотная долгоножка (*Tipula paludosa*) — к двукрылым (*Diptera*) сем. *Tipulidae*.

СВОЙСТВА РНК ВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ, СОДЕРЖАЩИХ РНК-ВИРИОНЫ

Ксерос [118] определил нуклеотидный состав РНК-вирионов, изолированных из цитоплазматических полиэдров бражника (*Sphinx populi*). Он был ярко выраженного АУ-типа и имел коэффициент специфичности 1,77 (аденина 0,41; гуанина 0,23; цитозина 0,13; урацила 0,23).

РНК из вируса цитоплазматического полиэдрома тутового шелкопряда была изолирована Кавазе [76, 77]. На колонке из метилированного альбумина она вымывалась $0,6-0,65 \text{ M NaCl}$, что свидетельствовало о ее вязкой природе, подобной ДНК. Константа седиментации РНК = 17S, а коэффициент специфич-

ности был равен 1,0. Работами нескольких авторов было подтверждено двухспиральное строение РНК вируса цитоплазматического полиэдроа тутового шелкопряда с молекулярным весом $14-18 \times 10^6$ дальтонов [66, 94].

Двухспиральная РНК была изолирована также из вирионов цитоплазматического вируса *Orgyia leucostigma*, содержание которой составляло 26—30% [68].

РНК из вирионов вируса цитоплазматического полиэдроа кольчатого шелкопряда (*Malacosoma disstria*) была изолирована с помощью обработки ацетоном. Полученный осадок РНК суспендировался в буфере и анализировался в сахарозном градиенте в ультрацентрифуге и в электронном микроскопе. В сахарозном градиенте были получены два пика РНК — 15S и 12S. Эти цифры близки к константам седиментации РНК вирусов цитоплазматических полиэдров *B. mori* и *O. leucostigma*. Выход РНК при ацетоновой обработке был в 2 раза больше, чем при обработке вирионов фенолом, однако автор показал, что ацетонное извлечение РНК пригодно только для двунитчатых РНК [69].

Хаяши и Кривенчик [72] изучили РНК вируса цитоплазматического полиэдроа *M. disstria* с помощью электрофореза в акриламидном геле. Так же как и в сахарозном градиенте, в акриламидном геле были получены две фракции РНК: одна — медленно мигрирующая в геле и соответствующая 15S РНК, другая — быстро передвигающаяся, соответствующая 12S РНК. Было получено дальнейшее разрешение 15S РНК на четыре фрагмента с молекулярным весом $2,5-2 \times 10^6$ дальтонов и 12S РНК на пять фрагментов с молекулярным весом $1,3-0,42 \times 10^6$ дальтонов. В сумме молекулярный вес РНК *M. disstria* составил $20-22 \times 10^6$ дальтонов.

Подобное разрешение РНК в акриламидном геле получили Калмаков и др. [75] для вируса цитоплазматического полиэдроа *B. mori*. В сумме девять фрагментов РНК составили для этого вируса молекулярный вес, равный $12,81 \times 10^6$ дальтонов.

Ранее Миура [94] сообщил о более низком молекулярном весе РНК вируса цитоплазматического полиэдроа тутового шелкопряда (3×10^6 и 1×10^6 дальтонов).

Вирус мешотчатого расплода пчел (*Sacbrood virus*), подобно вирусу острого паралича пчел, содержит РНК, которая была изолирована из очищенного вируса, полученного из больных мешотчатым расплодом пчел [88]. Реакция Динге на ДНК была отрицательной, реакция с орцином на РНК — положительной, с максимумом адсорбции при 660—670 мкм.

Однонитчатая РНК была изолирована из вируса *Gonometa padocarp* (*Lepidoptera*; *Lasiocampidae*). Ее содержание в вирионах составляло 3%, $T_{пл.} = 80^\circ \text{C}$ [65].

Следует остановиться особо на обнаруженной нами РНК ядерных полиэдров тутового шелкопряда.

Как можно видеть из табл. 15, к настоящему времени присутствие РНК показано у 13 видов полиэдров и гранул, содержащих ДНК-вирионы. Мы не сомневаемся, что РНК присутствует и у других включений *Baculovirus*, но не была там исследована. Роль этой РНК до сих пор не ясна.

Фолкнер [59], применив разные методы извлечения РНК из полиэдров тутового шелкопряда, показал, что содержание РНК значительно варьирует (0,19—0,84%) в зависимости от метода ее извлечения. Нуклеотидный состав РНК полиэдров, по данным Фолкнера, отличается от нуклеотидного состава РНК хозяина и ДНК вируса, и автором был сделан вывод о том, что РНК является самостоятельной структурной частью полиэдра.

Козлова и Тарасевич [8] двумя методами изолировали РНК из тщательно очищенных полиэдров тутового шелкопряда и из гусениц и определили нуклеотидный состав этих РНК с помощью высоковольтного электрофореза на бумаге. Нуклеотидный состав РНК полиэдров и гусениц различался. Коэффициент специфичности РНК гусениц был равен 1,1, полиэдров — 1,4. Таким образом, было установлено, что РНК полиэдров не является примесью РНК хозяина.

Ниже приводится состав оснований РНК полиэдров и гусениц тутового шелкопряда (*Bombyx mori*).

Источник РНК	Аденин	Гуанин	Цитозин	Урацил	Коэффициент специфичности (K_s)	Литературный источник
Гусеницы	24	29	25	22	0,96	[16]
	24	29,7	23,3	22,9	1,1	[8]
Полиэдры	36,8—45,7	16,2—18,3	8—8,2	38,9—27,8	0,34 из средн.	[59]
	23,4	33,2	25,2	18,1	1,4	[8]

Айзава [33] и нашими работами [23] было показано, что содержание РНК в полиэдрах варьирует в зависимости от штамма. Так, из полиэдров тутового шелкопряда тбилисского штамма РНК экстрагировалась гораздо легче, чем из ашхабадского.

Химено и Онодера [73] изолировали РНК из ядерных полиэдров тутового шелкопряда. Нуклеотидный состав РНК включал обычные основания (аденин, гуанин, цитозин и урацил). Константа седиментации $S_{20,w}$ была 7,25S. Оптическая плотность $E(P) = 8181$.

Первая попытка выяснения роли РНК полиэдров сделана Тарасевич с сотрудниками [23]. Оказалось, что высокая инфекционность щелочных растворов полиэдров (рН 10,5) для гусениц I возраста полностью снималась РНК-азой (рис. 41). Мы предположили, что за инфекционные свойства полиэдров ответствен

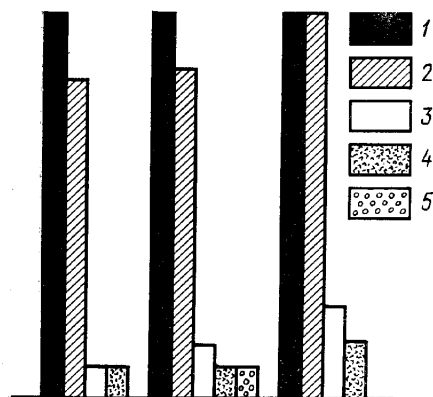


Рис. 41. Инфекционность разных фракций полиэдров в трех опытах (в процентах к нативным полиэдрам)
 1 — нативные полиэдры; 2 — содовый экстракт из полиэдров; 3 — то же + РНК-аза; 4 — процент спонтанной полиэдрии; 5 — 0,04 М Na₂CO₃

комплекс ДНК — РНК. Косвенным доказательством связи РНК полиэдров с их инфекционными свойствами, на наш взгляд, являются следующие факты: в опытах Ваун [114] при заражении культуры клеток насекомых вирусными частицами инфекционный процесс не развивался и начинался только после добавления в культуру белка полиэдров. Сходные данные были получены Милосердовой и Кок [12]. Ни те, ни другие авторы не упоминают о присутствии РНК в белке полиэдров, хотя, по всей вероятности, эта РНК и была ответственна за начало инфекционного процесса.

Мы предполагаем, что раскрытие роли РНК полиэдров и гранул, содержащих ДНК-вирионы, повлечет за собой открытие принципиально новых фактов в вирусологии насекомых.

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ ИНФИЦИРОВАННЫХ НАСЕКОМЫХ

Нуклеиновый обмен гусениц, пораженных вирусной инфекцией насекомых, изучался прежде всего гистохимическими методами и описан нами в главе II. В данном разделе нам хотелось бы остановиться на результатах тех исследований, которые выполнены методами молекулярной биологии.

Инфекционную РНК из гусениц и куколок тутового шелкопряда, пораженного ДНК-содержащим вирусом, выделили Гершензон с сотрудниками [2,3]. С помощью фенольного экстрагирования (рН 6,0) больных полиэдрозом гусениц тутового шелкопряда V возраста, искусственно зараженных суспензией ядерных полиэдров, авторы получили РНК на стадии появления первых полиэдров в гемолимфе. Этой РНК внутрилимфально заражали гусениц V возраста или молодых куколок дозой 50—175 мкг. В то время как суспензия полиэдров в смеси с вирусом давала 100%-ную гибель от полиэдроза, РНК, выделенная из больных насекомых, вызывала гибель гусениц в размере 26,9 и 60,2%, а РНК, полученная от здоровых, — только 0,5%.

Таким образом, РНК, выделенная из больных насекомых, обладала довольно высокой инфекционностью. В дальнейшем были изучены различные свойства инфекционной РНК гусениц [4] и получены инфекционные РНК из зараженных гусениц разных видов насекомых [9]. Основная масса рибосомной РНК клетки больных насекомых оказалась неинфекционной, а инфекционной является лишь РНК, вымываемая на колонке непосредственно перед пиком рибосомной РНК. На основании своих исследований авторы предположили, что эта РНК является мРНК, которая передает генетическую информацию вновь синтезированной вирусной ДНК. Это предположение требует более строгих прямых доказательств. Кроме того, необходимо иметь уверенность, что отсутствует латентная инфекция, широко распространенная у насекомых, и доказательства, что эта РНК не принадлежит полиэдрам, так как известна связь РНК полиэдров с их инфекционными свойствами [23]. Необходимо также иметь уверенность в том, что у гусениц отсутствует вирус цитоплазматического полиэдроза, при котором образуются РНК-вирионы. Принципиально возможность перехода РНК в ДНК при полиэдрозе тутового шелкопряда была показана нами ранее гистохимическими методами [26].

По данным Кок с сотрудниками [9], РНК, полученная от больных гусениц тутового шелкопряда, обладает более широким кругом хозяев, чем сам вирус. Так, капустница оказалась восприимчивой к РНК, выделенной из гусениц тутового шелкопряда, но не поражалась вирусом тутового шелкопряда.

Ямафуджи с сотрудниками [119] изолировали из ядер здоровых гусениц тутового шелкопряда фракцию ДНК, которая при инъекции личинкам вызывала полиэдроз. Возможно, что эта ДНК принадлежала латентной форме вируса ядерного полиэдроза. В дальнейшем Кислев и др. [81], изучая свойства ДНК вируса ядерного полиэдроза *Spodoptera littoralis*, обнаружили у внешне здоровых гусениц, не подвергавшихся инокуляции вирусом, ДНК, имеющую плавающую плотность в градиенте CsCl, равную плотности ДНК соответствующего вируса (1,704 г/см³). Авторы предполагают, что эта ДНК является формой существования латентного вируса и может вызвать вспышки спонтанного полиэдроза даже в том случае, если гусеницы выращиваются в асептических условиях.

Жеребцова и Кок [5] обнаружили биологическую активность препаратов общей РНК из личинок большой вошинной моли, пораженных ядерным полиэдрозом.

Добровольская и др. [4] изолировали из гусениц тутового шелкопряда, зараженных вирусом, препараты инфекционной ДНК, инфекционная активность которых снималась ДНК-азой, но не РНК-азой.

Миура с сотрудниками [94] изолировали двухцепочечную РНК из больных цитоплазматическим полиэдрозом гусениц тутового шелкопряда.

У елового пилильщика (*Diprion hercyniae*) метаболизм нуклеиновых кислот изучался с помощью автордиографических, биохимических и гистохимических методов [96]. Исследовался главным образом кишечник, так как вирус поражает только клетки кишечного эпителия. В качестве радиоактивной метки использовался тритированный тимидин. Было показано, что ^3H -тимидин в значительных количествах включался только в ядра кишечного эпителия. Уже в течение первых 24 час. после инфицирования 95% ^3H -тимидина экстрагировалось из гусениц. Вначале скорость включения ^3H -тимидина в ядра кишечного эпителия инфицированных гусениц вдвое превышала включение метки в ядра контрольных гусениц, затем скорость включения метки падала и снова давала высокий максимум, падающий к концу заболевания. Эти два пика синтеза ДНК были найдены методом автордиографии и измерением радиоактивности экстрагированной ДНК. Вначале ДНК включается в хроматин ядра, а затем, после образования виrogenной стромы, метка включается главным образом в эти структуры.

Концентрация РНК к 9 час. после инфицирования увеличивается до максимума.

Автордиографическое изучение обмена нуклеиновых кислот при гранулезе гусениц яблоневой плодовой гусеницы (*Agroparsa pomonella*) с помощью ^3H -тимидина и ^3H -урацила показало, что первой реакцией клеток жирового тела на вирусную инфекцию было резкое увеличение скорости синтеза РНК. После этого наступало уменьшение скорости синтеза РНК и ДНК до нормального уровня, что сопровождалось дегенерацией ядрышек и хроматина. В период образования виrogenной стромы в ядрах скорость синтеза РНК снова увеличивается и в 3 раза превосходит нормальный синтез РНК. Через 60—70 час наблюдается огромное увеличение синтеза ДНК, в 30 раз превышающее нормальный уровень [39].

У гусениц соснового кистехвоста (*Neomeris cembra pseudotsugata*) изучался синтез ДНК при ядерном полиэдросе [50]. Вирус метился радиоактивным фосфором (P^{32}), и изолированная из больных гусениц ДНК подвергалась центрифугированию в градиенте плотности хлористого цезия при 125 000 g в течение 48 час. Полученные фракции ДНК осаждались ТХУ, и радиоактивность каждой фракции просчитывалась в счетчике. В течение первых трех дней после инфицирования гусениц синтез вирусной ДНК не определялся, но быстро увеличивался на 4-й день. Иногда между 72—96 час. после инфицирования наблюдался взрыв вирусной ДНК и продолжался до 5-го дня. Пик фракции клеточной ДНК в CsCl имел плотность, равную 1,695 г/см³, вирусной ДНК — 1,7—1,710 г/см³.

Кавазе [77] наблюдал изменения РНК в эпителии средней кишки гусениц тутового шелкопряда, инфицированных вирусом цитоплазматического полиэдроса. Он установил распределение РНК в субклеточных фракциях и показал, что вирусная РНК за-

нимает 16% общей РНК в ядерной фракции, 8,1% в митохондриальной и 5,3% в микросомальной.

В случае пероральной инфекции количество вирусной РНК постепенно увеличивается (до 48 час. после инфицирования), затем резко возрастает в среднем периоде (от 48 до 96 час. после инфицирования), после чего постепенно падает. При инъекции P^{32} инфицированным гусеницам изотоп включался во фракцию нуклеиновых кислот, достигая наивысшего уровня через 72 часа после инъекции. Уже через 16 час. скорость включения метки в вирусную РНК была в 3 раза выше, чем включение в рибосомальную РНК. При автордиографическом исследовании с помощью меченого уридина (^3H -уридин) оказалось, что наряду с включением метки в цитоплазму клеток большая ее часть включалась в ядра больного кишечника, что говорит о возможности синтеза вирусной РНК в ядрах эпителия средней кишки.

Кавазе и Фурузава [78—80] изучили действие актиномицина Д на клеточную и вирусную РНК вируса цитоплазматического полиэдроса тутового шелкопряда, который, как известно, подавляет синтез клеточной РНК, зависимый от матричной ДНК. В здоровых гусеницах IV и V возрастов актиномицин Д подавлял включение изотопа (P^{32}) в рибосомальную РНК кишечника на 85—83%. В кишечниках, инфицированных вирусом, синтез вирусной РНК был едва затронут, что свидетельствовало о независимости синтеза вирусной РНК от РНК хозяина.

Левандовский и др. [89] показали, что очищенный вирус цитоплазматического полиэдроса тутового шелкопряда содержит РНК-полимеразу, которая в бесклеточной системе синтезирует одноцепочечные молекулы информационной РНК, копирующиеся с матрицы двухцепочечной РНК. Эта мРНК обеспечивает синтез белка, необходимого для размножения вируса.

Хаяши [67, 70] исследовал методом седиментационного анализа фракции рибосом здоровых и больных цитоплазматическим полиэдросом гусениц кольчатого коконопряда (*Malacosoma distria*). Седиментационный профиль экстрактов рибосом больных гусениц ясно отличался от здоровых дополнительным пиком в области, соответствующей свободным вирусным частицам, и был связан с полирибосомами.

У *Orgyia leucostigma* (Lymantriidae) синтез вирус-специфической РНК изучался Хаяши [69] в присутствии и в отсутствие актиномицина Д. Гусеницы метились радиоактивным уридином, и после выделения РНК из кишечника здоровых и больных гусениц снимались профили седиментации и определялась радиоактивность этих РНК.

РНК из здоровых кишечника давала три пика седиментации — 26, 17 и 4S, которые полностью подавлялись в присутствии актиномицина Д. Профиль седиментации РНК из больных кишечника почти не отличался от РНК здоровых гусениц. Однако в присутствии актиномицина Д, когда синтез клеточной РНК

был подавлен, синтезировались два вида вирус-специфической РНК. Одна из них чувствительна к РНК-азе и состоит из двух компонентов — 22 и 15S, вторая — устойчива к РНКазе и дает два пика — 15 и 12S. По-видимому, первая представляет собой мРНК, транскрибированную с РНК вирусного генома, а вторая принадлежит потомству вирусной РНК.

В дальнейшем Рихарде и Хаяши [101] сообщили о разработанном им методе разделения двунитчатой, рибосомальной и вирус-специфической однонитчатой РНК, изолированных из кишечников кольчатого шелкопряда (*Malacosoma disstria*).

Келли и Тинслей [80a] изучили синтез нуклеиновых кислот в клетках насекомых, инфицированных радужными вирусами типа 2 и 6. Вирус-специфический синтез РНК определялся через 24 часа после инфицирования, а синтез ДНК — только через 96 час. Появлению зрелых вирусных частиц предшествовал синтез молекул ДНК вирусного потомства.

Синтез нуклеиновых кислот хозяина падал в течение инфекции.

Таким образом, можно с удовлетворением констатировать, что вирусы насекомых и их нуклеиновые кислоты начали интенсивно изучаться методами молекулярной биологии. Это позволяет глубже проникнуть в процессы синтеза вирусных нуклеиновых кислот и способствовать более правильной классификации вирусов насекомых.

БЕЛКИ ВИРУСОВ И ВИРУСНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ НАСЕКОМЫХ

Белки вирусных включений

Еще Панебианко [99] обратил внимание на необычность белка полиэдров тутового шелкопряда. Этот белок отличался крайней устойчивостью к гниению, плохой проницаемостью для красок и имел кристаллическое строение. Панебианко показал, что полиэдры не имеют двойного лучепреломления в потоке.

Болле [48] также было известно, что полиэдры тутового шелкопряда состоят из белка и не растворяются в воде, спирте, эфире, ацетоне, но растворяются в щелочах и кислотах. Описание тинкториальных и других свойств полиэдров можно найти в обзоре Бергольда [47].

То обстоятельство, что нативные полиэдры не перевариваются протеолитическими ферментами — трипсином, пепсином, папаином при pH 6,8—8 и при этом не инактивируются и не изменяют свою непроницаемость для красителей, было показано Залмонзон [6]. Только после денатурации белка полиэдров в условиях кислых pH (<pH 2,9) они начинают перевариваться протеолитическими ферментами.

Нами было показано, что устойчивость полиэдров к растворению, восприимчивость к красителям и хранению связана с наличием серосодержащих аминокислот в поверхностном слое полиэдров.

В свежевыделенных полиэдрах, которые значительно легче растворяются и красятся, чем полиэдры, хранившиеся долгий срок, содержатся свободные сульфгидрильные группы, которые при хранении («старении») окисляются до дисульфидных групп (цистеин переходит в цистин), обладающих прочными связями. Этими свойствами белки полиэдров сходны с белками группы кератинов (белки шерсти, рогов, копыт животных), которые являются очень прочными, но легко растворяются в щелочах.

Связь инфекционных свойств различных вирусов с наличием свободных сульфгидрильных групп известна и описана в литературе [28].

Эстес и Фауст [57] обнаружили в ядерных полиэдрах *Heliothis zea* кремний в количестве 0,12% на сухой вес, который они считают составной частью структурной решетки полиэдров. Освобождение вирусных частиц из полиэдров при воздействии на них слабощелочных растворов зависит, по мнению этих авторов, от растворения кремния в кишечнике насекомых.

Фауст и Адамс [62] исследовали 5 видов полиэдров (3 вида ядерных и 2 вида цитоплазматических из насекомых, относящихся к чешуекрылым). Во всех видах полиэдров был обнаружен кремний в количестве 0,1—0,3% на сухой вес. Определялось действие сока средней кишки трех видов насекомых — *Bombux mori*, *Heliothis zea* и *Trichoplusia ni* — на процент растворения полиэдров. Процесс растворения полиэдров контролировался в электронном микроскопе. Оказалось, что 0,5 М боратный буфер с pH 8,5, диализованный непрогретый, а также прогретый (100°, 35 мин.) кишечный сок насекомых при инкубации с полиэдрами в течение 2 час. при 37° совершенно не растворяли полиэдров. Последние сохраняли свою обычную форму с резкими очертаниями и не освобождали вирусных частиц. Недиаализованный и непрогретый кишечный сок насекомых (pH 8,6) растворял 70,61—79,36% белка полиэдров, а недиаализованный и прогретый сок — 33,35—38,64%. На основании полученных результатов эти авторы пришли к выводу, что начало растворения белкового матрикса не вызывается энзимами кишечника, а объясняется только влиянием щелочных агентов, разрушающих связи между белком полиэдров и кремнием. По-видимому, начало растворения полиэдров в кишечнике насекомых, действительно, не связано с действием энзимов, а связано, как нам кажется, с процессами, происходящими в поверхностном слое полиэдров под действием щелочных pH, и после проникновения щелочного агента внутрь полиэдра, возможно, происходит разрушение кремне-белковых связей.

Однако еще преждевременно делать вывод о полном отсутствии энзиматического действия сока кишечника на полиэдры, так как, по данным Фауста и Адамса, непрогретый кишечный сок вдвое активнее растворял полиэдры.

Игава и Саммерс [53] испытывали 84 соединения при различных рН и температуре с целью подобрать растворитель белка вирусных включений при нейтральном рН. Среди этих соединений были буферные растворы, детергенты, спирты, соли, органические кислоты, гуанидин, мочевины и различные их комбинации. Наиболее эффективным растворителем при рН 7 оказался нормальный 60%-ный пропанол, насыщенный хлористоводородным гуанидином (+25°), т. е. те соединения, которые действуют на гуанофобные (пропанол) и водородные (гуанидин) связи белков. Очень важным в этой работе является подбор растворителя, действующего при нейтральном рН. Правда, еще неизвестно, как действует этот растворитель на вирусные частицы, заключенные в гранулах.

Бергольд и Веллингтон [46] сравнили содержание 17 аминокислот в вирионах, мембранах и полиэдрическом белке полиэдров тутового шелкопряда. Наибольшее количество аминокислотных остатков содержалось в полиэдрическом белке, наименьшее — в мембранах (94,5 и 58,6 г/100 г образца соответственно). В вирусных частицах содержание аминокислотных остатков составляло 72,5 г. В белке полиэдров было в 2 раза больше, чем в

Таблица 20
Аминокислотный состав полиэдрических вирусов насекомых
(в г на 100 г образца)

Аминокислота	<i>Porthetria dispar</i> (Lymantridae)	<i>Malacosoma americanum</i> (Lasiocampidae)	<i>Malacosoma disstria</i> (Lasiocampidae)	<i>Bombyx mori</i> (Bombycidae)
Аспарагиновая	12	11	11	13,3
Глутаминовая	8,5	9,3	10,0	6,9
Гистидин	0,9	1,5	1,1	0,7
Лизин	2,1	3,5	3,5	3,3
Аргинин	19,8	16,1	15,5	11,1
Глицин	6,1	4,0	4,9	8,1
Аланин	5,9	3,9	3,6	4,5
Валин	4,4	3,6	3,1	3,8
Лейцин и (или) изолейцин	11,0	11,8	12,7	11,2
Пролин	6,4	6,3	5,2	4,9
Тирозин	2,8	4,8	6,1	6,2
Серин	9,4	10,5	9,0	8,5
Треонин	4,4	6,0	6,4	9,6
Цистеин и (или) цистин	0,9	0,8	0,6	0,7
Метионин	1,0	2,4	2,4	2,8
Фенилаланин	4,5	4,7	5,5	4,6
Аминокислоты, г на 100 г вируса	57,5	87,1	83,7	75,9

вирионах глутаминовой кислоты, тирозина, валина, лейцина и (или) изолейцина и фенилаланина, в 4 раза больше лизина и в 6 раз — гистидина.

Аминокислотный состав вирусов насекомых, поражающих представителей разных семейств насекомых и относящихся к группе палочковидных вирусов, различается незначительно. Только вирус непарного шелкопряда (*P. dispar*) содержит меньше тирозина, треонина и метионина, чем вирусы *Malacosoma americanum*, *M. disstria* и *B. mori* [116].

Приведем данные из работы Веллингтона по аминокислотному составу палочковидных вирусов (табл. 20).

Обращает на себя внимание очень большое содержание в вирусах насекомых аргинина, аспарагиновой, глутаминовой кислот, лейцина, изолейцина и серина. Два вида коконопрядов, *M. americanum* и *M. disstria*, оказались очень близки по аминокислотному составу.

При изучении концевых групп белка полиэдров не было обнаружено NH_2 -группы. Предполагалось, что она ацилирована.

Первичная структура белка ядерных полиэдров тутового шелкопряда была установлена Козловым и др. [7]. Гомогенность выделенного белка и его субъединиц проверялась электрофорезом на бумаге, хроматографией на ДЕАЕ-целлюлозе, ультрацентрифугированием. Выявлена С-концевая последовательность аминокислот в белке полиэдров: гли-глу (тре, ала, вал, сер)-лей-фен-тир- COOH . Таким образом, установлена одна С-концевая аминокислота — тирозин.

Ниже приводятся некоторые физико-химические характеристики белков трех видов полиэдров чешуекрылых насекомых [по 47], которые оказались близкими по своим свойствам:

Константа	Белки полиэдров из насекомых-хозяев		
	<i>Porthetria dispar</i>	<i>Lymantria monacha</i>	<i>Bombyx mori</i>
S_{20} (константа седиментации)	12,57	12,78	12,85
$D, 10^{-7} \text{ см}^2 \text{ сек}^{-1}$ (диффузия)	4,18	3,50	3,12
Молекулярный вес	276 000	336 000	378 000
Изоэлектрическая точка	5,7	5,3—5,6	5,3—5,6*

* По нашим данным, изоэлектрическая точка белков полиэдров тутового шелкопряда находится при рН 5,2 [18].

Белковые субъединицы расположены в полиэдрах и гранулах в виде правильной кристаллической решетки [36, 54].

Серологическое изучение белков полиэдров и гранул насекомых методом двойной диффузии в агар показало, что все они обладают по меньшей мере двумя антигенными группами, из которых одна является специфической для белка данного вируса, а другая — общая для всех изученных белков полиэдров и гранул чешуекрылых насекомых. Тесное серологическое родство наблюдается у вирусов, поражающих близкие виды хозяев, как, напри-

мер, между белками гранул листоверток *Choristoneura fumiferana* и *C. pinipapa*, или белками полиэдров, поражающих близкие виды перепончатокрылых, пилильщиков — *Neodiprion sertifer* и *Diprion hercyniae*.

Белки гемолимфы насекомых и белки полиэдров оказались серологически неродственными. Об отсутствии серологического родства между этими белками сообщали ранее Аоки и Чигасаки [35]. Не удалось найти корреляции между филогенетическим родством насекомых-хозяев и серологическими взаимоотношениями белков полиэдров этих насекомых. Так, например, белки полиэдров листоверток (*Tortricidae*), и белянок (*Pieridae*) были гораздо более родственны белкам полиэдров настоящих шелкопрядов (*Bombycidae*), сатурнид (*Saturniidae*) и совок (*Geometridae*), чем белкам полиэдров из семейств *Galleridae*, *Noctuidae* или *Lymantriidae*. Согласно филогенетической классификации чешуекрылых насекомых, листовертки и белянки филогенетически далеко отстоят от семейств *Bombycidae*, *Saturniidae* и *Geometridae*. Серологическое различие наблюдалось между белками полиэдров чешуекрылых (*Lepidoptera*) и перепончатокрылых (*Hymenoptera*), а также между белками полиэдров и гранул одного и того же хозяина [84].

Вирусы цитоплазматических полиэдров — *Bombyx mori*, *Malacosoma disstria* и *Orgyia leucostigma* — имеют общий антиген с рибосомами, изолированными из различных источников, но, как оказалось, этот антиген определялся не белками, которые серологически различались у этих вирусов, а РНК, присутствующей в вирусах [86].

Ван-дер-Гист и Крейг [112, 113] определили суммарный аминокислотный состав кислотного гидролизата ядерных полиэдров (без отделения вирусных частиц) у подгрызающей совки (*Peridroma saucia*). Содержание 17 аминокислотных остатков было сходным с аминокислотным составом белков других вирусов насекомых. Особенно много в белке полиэдров *P. saucia* содержалось аспарагиновой и глутаминовой кислот, лизина, аргинина и лейцина (7,4—11,7%).

При электрофорезе в акриламидном геле щелочных растворов ядерных полиэдров *Mamestra brassicae* были получены 4 фракции белков [112, 113]. При растворении ядерных полиэдров большой вошинной моли в 0,05 М Na_2CO_3 —0,1 М NaCl , при pH 11,0 (белок I) или в 67%-ной уксусной кислоте (белок II) и электрофорезе в полиакриламидном геле в присутствии SDS белок I давал основной компонент с молекулярным весом около 28 000 и три минорных компонента с более низким молекулярным весом. В белке II обнаружен только один компонент с молекулярным весом ~28 000 [7a].

В ядерных полиэдрах *Heliothis zea* определялся аминокислотный состав после их кислотного гидролиза. Он оказался сходным с аминокислотным составом полиэдрических белков других ви-

дов насекомых и особенно близок был к составу полиэдров *Malacosoma disstria*. Особенно много в полиэдрах *H. zea* содержалось аспарагиновой и глутаминовой кислот (13,28 и 10,93% соответственно), лизина, тирозина и аргинина (8,16, 8,32, 8,68% соответственно). ДНК и РНК, определенные фракционированием полиэдров *H. zea*, содержались в количествах 0,78 и 0,26% соответственно [105].

Бергуа и Верунэ [42] сравнивали аминокислотный состав белков веретеновидных и сферических включений, образующихся у майского хруща (*Melolontha melolontha*) при поражении вирусом оспы. Содержание азота в обоих типах включений было почти одинаково (15,15 и 15,04%).

Общий аминокислотный остаток составлял 95—98% на сухой вес. В то время как общее количество аминокислот было сходным, их содержание различалось. Так, в сфероиде содержалось в 2,3 раза больше лейцина, чем в веретеновидных включениях.

Напомним, что сфероиды содержат вирусные частицы, а веретеновидные включения их лишены. Обращает на себя внимание высокое содержание цистинных остатков в обоих типах включений (5,8% в сфероиде и 5% в веретеновидных включениях).

Как видно из табл. 20, в белке полиэдров различных видов насекомых содержится менее 1% серусодержащих аминокислот.

При центрифугировании в градиенте плотности сахарозы щелочного раствора белкового матрикса полиэдров капустной металловидки (*T. pi*) были обнаружены три зоны седиментации. Наиболее медленно седиментирующий компонент имел $S_{20, w} = 11 \text{ S}$ и УФ-адсорбцию, типичную для белка (276 нм).

Во второй зоне локализовались вирусные капсиды — пустые мембраны размером $310 \times 40 \text{ нм}$ и сферические частицы с $d = 20 \text{ нм}$. Третья зона была представлена зрелыми вирусными частицами ($300 \times 72 \text{ нм}$) с константой седиментации 1530 S [104].

Белки вирионов

Вирусные частицы, полученные растворением ядерных полиэдров тутового шелкопряда в щелочном растворе, и гемолимфа инфицированных гусениц после удаления гемоцитов различались при хроматографировании на катионном обменнике СМ-сефадексе G-25 [115]. Гемолимфа давала два инфекционных пика: при элюции 0,01 М фосфатным буфером и при элюции 0,01 М буфером + 0,4 М KCl . В этих же условиях хроматографии суспензия вирусных частиц давала только один пик, идентичный первому пику гемолимфы. Это исследование было предпринято для того, чтобы выяснить причину более удачного инфицирования тканевых культур гемолимфой больных гусениц, чем вирусными частицами, что отмечалось многими исследователями. По-видимому, вещество гемолимфы, элюирующееся 0,4 М KCl , в значительной степени ответственно за инфекционные свойства гемолимфы.

Кривенчик и др. [85] показали, что вирионы вирусов цитоплазматического полиэдроза тутового шелкопряда (*Bombyx mori*) были серологически отличны от вирионов вирусов цитоплазматического полиэдроза — *Orgyia leucostigma* и *Malacosoma disstria*. Эти насекомые относятся к одному отряду чешуекрылых, но к разным семействам (настоящих шелкопрядов, волнянок и коконопрядов). Вирионы двух последних семейств насекомых имели слабое серологическое родство.

Исследовался аминокислотный состав белков вирусов, вызывающих цитоплазматический полиэдроз у гусениц *Bombyx mori*, *Orgyia leucostigma* и *Malacosoma disstria*, и белков насекомых-хозяев. Аминокислотный состав белков вирионов и белков средней кишки *O. leucostigma* был очень близким, и отношение основных аминокислот к кислым было почти одинаковым (0,39 и 0,38 М/100 М соответственно). У *M. disstria* аминокислотный состав белка свободных вирионов резко отличался от состава белка рибосом средней кишки *M. disstria*: отношение основных аминокислот к кислым в вирионах было 0,26, в белках рибосом хозяина — 1,01.

Отношение основных и кислых аминокислот значительно различалось в белках разных видов вирусов. Особенно резко это различие проявлялось с белками вируса гранулеза *Choristoneura fumiferana* и радужного вируса *Tipula*, у которых оно было 1,03 и 1,09 соответственно. У РНК- и ДНК-содержащих полиэдрических вирусов оно варьировало в пределах 0,45—0,96 [71].

Авторы предполагают, что баланс основных и кислых аминокислот может послужить для дифференциации различных штаммов вирусов. Однако, по-видимому, это не всегда оправдано, так как мы видим, что в белках резко различных родов вирусов (*Baculovirus* и *Iridovirus*) наблюдается одинаковое отношение основных и кислых аминокислот.

Хаяши и Берд [68] сравнивали свойства свободных вирусных частиц из инфицированных тканей и частиц, изолированных из цитоплазматических полиэдров гусениц *Orgyia leucostigma*, и показали, что они несколько различаются по свойствам. Так, свободные вирионы содержали 28% РНК, спектр адсорбции имел максимум при 259 мк и минимум при 240 мк с отношением максимума к минимуму 1,3 и отношением $259 : 280 = 1,8$, что свидетельствует о нуклеопротеидной природе вирионов. Коэффициент седimentации свободных вирусных частиц — 380S. Вирусные частицы, изолированные из полиэдров, содержали 26% РНК, максимум адсорбции — при 260 мк, минимум — при 245 мк с отношением $260 : 245 = 1,1$ и $260 : 280 = 1,5$. Свободные вирусные частицы оказались крайне устойчивыми к замораживанию и оттаиванию, а частицы, освобожденные из полиэдров щелочной обработкой, менее устойчивыми.

Трипсин, химотрипсин, рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза и фосфолипаза С не действовали на структуру вируса. 1%-ный рас-

твор дезоксирибонуклеата не повреждал вирусные частицы, в то время как 0,5—1%-ный раствор додецилсульфата натрия полностью разрушал вирусные частицы. Ультразвуковые колебания (с частотой 20 кГц/сек) в течение 30—60 сек. не разрушали частицы, но 5—10-минутная обработка приводила к выходу некоторых компонентов, особенно РНК. При pH 7,5 при 60° через 1 час наблюдался выход РНК из вирусных частиц. При комнатной температуре и pH 11,0 разрушения вирусных частиц не наблюдалось, но при 50° происходило разрушение вирионов и появление пустых вирусных частиц.

Изолированные из цитоплазматических полиэдров щелочной обработкой вирионы, а также свободные, незаключенные вирионы, изолированные из тканей больных насекомых, обладали РНК-полимеразной активностью [52], так же как и вирионы из цитоплазматических полиэдров тутового шелкопряда. РНК-полимеразная активность определялась по способности вирионов включать меченые рибонуклеозид-трифосфаты в кислотонерастворимую фракцию вирионов. Уже через 50 мин. вирионы включали меченные по углероду АТФ, ГТФ и УТФ. Максимум включения наблюдался через 3 часа инкубации в стандартной опытной смеси. Активность РНК-полимеразы проявлялась между pH 7 и 9 с максимумом при pH 7,8. 27—30° являлись оптимальной температурой для активности фермента. Было показано, что РНК-полимеразная активность связана с поверхностью вириона, а не с его сердцевинной.

Цитоплазматический вирус кишечника *Gonometa podocarpis* (Lasiocampidae) был тщательно очищен в градиенте плотности сахарозы, изучены некоторые его свойства: размеры, серологическое родство с другими вирусами, химический состав, плавучая плотность. Его частицы имели в диаметре 32 нм. Эта величина несколько меньше сообщенной Харрап и др. [60]. Вирус содержал 37% однонитчатой РНК и 63% белка. При электрофорезе в акриламидном геле белок вируса давал четыре полипептида с молекулярным весом от 12 000 до 36 500. Плавучая плотность вируса равнялась 1,35 г/см³ при pH 7,6, константа седimentации — 180S. Вирус не имел серологического родства с РНК-содержащими вирусами *Antheraea eucalypti*, *Nudaurelia cytherea capensis* и вирусом *P. Drosophila melanogaster* [65].

Рихардс и Хаяши [101] сравнивали чувствительность свободных вирионов и вирионов, изолированных из цитоплазматических полиэдров гусениц кольчатого шелкопряда (*Malacosoma disstria*), к растворителям липидов. При 23° (1,5 часа) ни эфир, ни хлороформ не разрушали вирионы, однако при 37° свободные вирионы разрушались, а вирионы из полиэдров были устойчивыми. При разрушении свободных вирионов, при центрифугировании в градиенте плотности сахарозы, на вершине градиента появлялся легкий компонент (148S), который представлял собой вирионную РНК, что установлено с помощью меченого уридина и специфи-

ческой УФ-адсорбции. Эта работа позволяет сделать вывод об отсутствии липидов в вирионах и о разной степени зрелости свободных и заключенных в полиэдр вирионов. Последнее обстоятельство подтверждается и электронномикроскопическими исследованиями других авторов (см. главу II), показавших, что вирионы включаются в белковый матрикс полиэдров только после того, как оденутся мембранами.

Плюс [100] обнаружила различную чувствительность к температуре трех штаммов вируса сигма дрозофилы. При осаждении в растворе Рингера чувствительные к температуре штаммы теряли инфекционные свойства, в то время как устойчивый к температуре штамм их сохранял.

Незаклученный вирус *Galleria*, описанный Менадье и др. [93], очищался с помощью обработки смесью хлороформа с бутанолом и последующим центрифугированием в градиенте плотности сахарозы. Были получены два компонента с константами седиментации 119 и 58S. Оба компонента изучались в электронном микроскопе, определялось их серологическое родство, тип нуклеиновых кислот и аминокислотный состав. Тяжелый компонент представлял собой зрелые вирусные частицы 20 нм в диаметре, содержащие ДНК. Легкий компонент оказался пустыми вирусными частицами ($d=20$ нм), лишенными внутренней сердцевины, и не содержал нуклеиновых кислот. Оба компонента были серологически идентичными и имели очень близкий аминокислотный состав, который отличался от аминокислотного состава 17S белка здоровых гусениц. Белки здоровых гусениц содержали также компоненты 2—3, 30, 70 и 75S.

Глитц и др. [63] сравнивали свойства радужных вирусов *Tipula* и *Sericesthis*. Определялись их электрофоретическая подвижность, продукты переваривания трипсином, перекрестные серологические реакции и патогенность для определенного круга насекомых-хозяев. Оба вируса размножались на капустной совке (*Pieris brassicae*). Аналитическое ультрацентрифугирование в градиенте плотности сахарозы показало, что оба вируса имеют одинаковую константу седиментации, равную 2200S. Более легкий компонент (1400S) обоих вирусов представлял собой пустые вирусные частицы. Равновесное центрифугирование в хлористом цезии показало сходство плотностей двух вирусов — $1,31$ г/см³. Коэффициент диффузии обоих вирусов был равен $0,16 \times 10^{-7}$ см²/сек, а специфический объем частицы — $0,74$ мл/г при 20°. Вирусные частицы обоих вирусов имели $d=1480$ Å. Вирионы содержали 78% белка, 17% ДНК, 1,7% фосфора, 2—4% липидов и не содержали полиаминов. Аминокислотный состав белков двух вирусов был очень близким, но отличался от аминокислотного состава более легкого компонента содержанием аргинина, которого было в два раза меньше в 1400S-компоненте. Вирус *Sericesthis* обладал большей патогенностью по отношению к *Pieris brassicae*, *Vanessa io* и *Lymantria dispar*, чем вирус *Tipula*.

Одинаковые константы седиментации вирусов *Tipula* и *Sericesthis* получили Дей и Мерцер [51] (2200S). Они показали устойчивость вирионов вируса *Sericesthis grisea* к эфиру и хлороформу (при pH 3 и 10,5 в течение 3 час.). Вирус оказался достаточно термостабилен и уже через 30 мин. при 50° терял инфекционные свойства для гусениц *Galleria*.

При изучении белка вируса *Tipula* с помощью электрофореза в акриламидном геле Крейль и Ли [81a] получили 28 полипептидов с молекулярным весом от 17 000 до 300 000. Авторы показали также, что при инфицировании насекомых вирусом *Tipula* происходит переключение синтеза полипептидов от специфических для хозяина к вирус-специфическим.

ПРОТЕИНОВЫЙ И АМИНОКИСЛОТНЫЙ ОБМЕН ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ НАСЕКОМЫХ

Наиболее интенсивно белковый обмен при вирусных инфекциях изучался у гусениц, относящихся к *Baculovirus* и *Reovirus*.

Гусениц тутового шелкопряда инфицировали ядерным полиэдрозом и вводили им меченный по водороду тирозин. Через определенные промежутки времени после инъекции кусочки чувствительных тканей фиксировались, нарезались на микротоме и из них готовились радиоавтографы. Через 1 час метка присутствовала почти во всех клетках тканей и к 5 час. достигала максимального включения. До образования полиэдров интенсивность включения метки не отличалась у здоровых и инфицированных гусениц. Активный протеиновый синтез ясно наблюдался вокруг заново образовавшихся полиэдров, и на их поверхности располагалось наибольшее количество зерен серебра. Этот синтез продолжался с ростом полиэдров [115].

Нами изучалось развитие инфекции ядерного полиэдроза у тутового шелкопряда в условиях подавления белкового синтеза в организме гусениц хлорамфениколом. Хлорамфеникол подавлял синтез белков у здоровых и инфицированных гусениц на 38 и 56% соответственно, в то же время выход полиэдров на единицу сухого веса гусениц не уменьшался, процент смертности гусениц от полиэдроза не изменялся (данные семи опытов) и инфекционные свойства «хлорамфениколовых» полиэдров не отличались от инфекционных свойств обычных полиэдров.

Известно, что хлорамфеникол не затрагивает первые этапы синтеза белка, которые, по-видимому, более важны для размножения полиэдрического вируса (накопление свободных аминокислот, их активация и передача к растворимой РНК) [26]. В гемолимфе тутового шелкопряда, инфицированного ядерным полиэдрозом, мы обнаружили интенсивное увеличение титруемых сульфгидрильных групп ($-SH$) [27]. Титрование $-SH$ -групп производилось амперометрически с помощью $HgCl_2$. На 5-й и 8-й день после инфицирования количество титруемых $-SH$ -групп

составляло 0,72 и 0,96 мкМ/мл гемолимфы, в то время как в гемолимфе здоровых гусениц количество титруемых SH-групп оставалось на уровне 0,25—0,26 мкМ/мл. Известно большое число работ, показывающих роль SH-групп вирусных белков в структуре и инфекционности вирусов [28]. Общее количество серы необычайно резко возрастало у гусениц *Galleria*, инфицированных вирусом ядерного полиэдроа [106].

У гусениц *Peridroma saucia*, инфицированных вирусом ядерного полиэдроа, сухой остаток в гемолимфе был меньше, чем у здоровых гусениц. Количество свободных аминокислот в гемолимфе резко снижалось, за исключением глицина и цистина, содержание которых значительно возрастало.

Инфицирование полиэдрозом увеличивало в жировом теле гусениц *Peridroma saucia* трансаминазную активность (глутаминовая — пировиноградная и глутаминовая — щавелевая кислоты) [113]. Противоположные результаты были получены при ядерном полиэдрозе гусениц *Heliothis zea* [105], в гемолимфе которых возрастал сухой остаток, общий белок и количество свободных аминокислот через 24 часа после инфицирования. У здоровых гусениц общее содержание свободных аминокислот неуклонно уменьшалось — от 889 до 633 мг/100 мл гемолимфы. У инфицированных гусениц, наоборот, оно возрастало до 1039 мг/мл, а затем снижалось до 785—825 мг/мл. У инфицированных гусениц в течение первого дня на 20—60% возрастало содержание гистидина, треонина и аланина. Количество глицина увеличивалось в 3,2 раза. Авторы предполагают, что глицин необходим для синтеза нуклеиновых кислот, так как обеспечивает построение пуринового кольца в положении С—4, С—5 и N—7 атомов.

Противоречивые результаты, полученные в отношении ядерных полиэдрозов *Peridroma saucia* и *Heliothis zea*, трудно объяснить свойствами самих насекомых-хозяев, так как оба насекомых относятся к одному семейству подгрызающих совок (Noctuidae).

Мы склонны объяснить это разным временем проведения анализов с момента инфицирования гусениц. У насекомых метаболизм претерпевает резкие изменения в пределах одного возраста. Так, нами было показано, например, что интенсивность фосфорного и азотного обмена у гусениц V возраста тутового шелкопряда возрастает до максимума к середине возраста, а затем падает. Такая динамика наблюдается и у здоровых и у инфицированных гусениц [21]. При сравнении данных разных авторов необходимо учитывать время анализа, прошедшее с момента инфицирования гусениц.

У капустной металлоидки (*Trichoplusia ni*) содержание общего белка жирового тела возрастало к концу заболевания. Наиболее интенсивный синтез белка происходил в первый день после инфицирования, затем его интенсивность падала, что определялось включением меченного по углероду лейцина [74].

При инфицировании гусениц тутового шелкопряда вирусом цитоплазматического полиэдроа не было заметных различий со здоровыми гусеницами в количестве белка в гемолимфе и средней кишке в течение первых шести дней после инфицирования. В гемолимфе здоровых гусениц белок прогрессивно увеличивался, у инфицированных наблюдалось слабое увеличение содержания белка. На 6-й день после инфицирования у больных гусениц было заметно меньше белка, чем у здоровых. В средней кишке наблюдалось незначительное увеличение количества белка и на 6-й день не было значительных различий между здоровыми и инфицированными гусеницами.

Моррис [96] изучил изменения белков у насекомых, пораженных вирусами ядерного полиэдроа, дензонуклеоза и радужным вирусом *Tipula*, с помощью радиоактографии. Количество общего белка увеличивалось у насекомых к середине инкубационного периода, а затем уменьшалось. Использовались меченные по углероду глутаминовая кислота, лейцин, аргинин и тирозин, так как эти аминокислоты содержатся в больших количествах в белке полиэдров и вирионов и играют большую роль в метаболизме насекомых. Гусеницы *Lambdina fiscellaria lugubrosa* и *Diprion hercyniae* инфицировались специфическими ядерными полиэдрами, а гусеницы *Galleria mellonella* — вирусами дензонуклеоза и *Tipula*. Изменения аминокислот определялись подсчетом зерен серебра, развивающихся в 100—228 ядрах в соответствующих участках цитоплазмы. У гусениц *L. fiscellaria lugubrosa* и *Diprion hercyniae* наблюдались гипертрофия ядер и увеличение количества глутаминовой кислоты, лейцина, аргинина и тирозина в ядрах. Одновременно в цитоплазме происходило уменьшение содержания глутаминовой кислоты и лейцина. По мере развития инфекции, вызванной вирусом дензонуклеоза, наблюдалась аналогичная картина.

Моррис считает, что в цикле размножения вирусов полиэдроа и дензонуклеоза имеет место передвижение структурного вирусного белка из цитоплазмы в ядро. При инфицировании *Galleria* радужным вирусом *Tipula* такой миграции не происходит, однако в отличие от вышеописанных случаев инфицирования значительно увеличивается общий клеточный аргинин. Еще Кавазе [77] установил, что частицы радужного вируса *Tipula* содержат много аргинина и что, возможно, аргинин играет особую роль в инфекционном процессе, вызванном этим вирусом.

Как бы ни были противоречивы литературные данные о синтезе белка и аминокислот в течение инфекционного процесса, вызванного различными вирусными инфекциями, они определенно свидетельствуют о том, что в процессе инфекции имеют место значительные сдвиги в белковом и аминокислотном обмене в чувствительных тканях насекомых.

1. Барановский В. И., Ларионов Г. И. 1971. Изв. Сиб. отд. АН СССР, **15**, 8, 116.
2. Гершензон С. М. 1960. Допов. АН УРСР, № 12, 1638.
3. Гершензон С. М., Кок И. П. 1964. Тезисы докл. I Всес. биохим. съезда, вып. I, 61. М.—Л.
4. Добровольская Г. М., Кок И. П., Смирнова И. А., Чистякова А. В. 1965. Микробиол. журн., **27**, 6, 73.
5. Жеребцова Э. Н., Кок И. П. 1967. Допов. АН УРСР, сер. Б, № 1, 75.
6. Залмонзон Е. С. 1949. Микробиология, **18**, 4, 361.
7. Козлов Э. А., Серебряный С. Б., Согуллева В. М. 1963. Тезисы докл. I Всес. биохим. съезда, вып. II, 71. М.—Л.
- 7а. Козлов Э. А., Сидорова Н. М., Серебряный С. Б. 1973. Биохимия, вып. 38, 1014.
8. Козлова Е. В., Тарасевич Л. М. 1973. III Всес. Межвуз. конф по ветерин. вирусол. М.
9. Кок И. П., Скуратовская И. Н., Добровольская Г. Н., Билай Т. И. 1964. Тезисы докл. I Всес. биохим. съезда, вып. II, 72. М.—Л.
10. Кок И. П., Чистякова А. В., Гудзь-Горбань А. П., Соломко А. П. 1968. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
11. Ларионов Г. В. 1971. Морфологическая и физиологическая характеристика штаммов вируса ядерного полиэдраза *Ospergia disparis* L., выделенных в различных районах СССР и Югославии. Автореф. канд. дисс. Киев.
12. Милосердова В. Д., Кок И. П., Рындич-Чистякова А. В., Никоненко В. У. 1972. Цитология и генетика, **6**, 4, 352.
13. Никоненко В. У., Шугалий А. В. 1972. Материалы II конф. молодых ученых Сектора молекулярной биологии и генетики по вопросам молекул. биол. и генетики. Киев, «Наукова думка».
14. Нурлыбаева Р., Ларионов Г. В. 1971. Вестник с. х. науки, № 6, 113. Алма-Ата.
15. Рыжков В. Л., Городская О. С. 1949. Бюлл. эксп. биол. и мед., **217**, 2, 138.
16. Сисакян Н. М., Гумилевская Н. А. 1959. Докл. АН СССР, **124**, 5, 1154.
17. Спирин А. С. 1958. Биохимия, **23**, 5, 656.
18. Тарасевич Л. М. 1945. Докл. АН СССР, **37**, 9, 694.
19. Тарасевич Л. М. 1946. Микробиология, **15**, 4, 337.
20. Тарасевич Л. М. 1947. Микробиология, **16**, 4, 323.
21. Тарасевич Л. М. 1952. Биохимия, **17**, 282.
22. Тарасевич Л. М. 1969. Вопросы вирусол., **2**, 135.
23. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф., Шведчикова Н. Г. 1966. В сб. «О природе вирусов». М., «Наука».
24. Тарасевич Л. М., Хакимова М. А. 1970. Докл. АН УзССР, № 3, 56.
25. Тарасевич Л. М., Панфилова Б. В. 1971. Успехи совр. микробиол., **7**, 240.
26. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф. 1966. Докл. АН СССР, **166**, 4, 970.
27. Тарасевич Л. М., Каспарьянц Л. Р. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 341.
28. Тарасевич Л. М. 1963. Вопросы вирусол., № 2, 135.
29. Тарасевич Л. М., Хакимова М. А. 1973. III Всес. Межвуз. конф. по ветерин. вирусол. М.
30. Тихоненко Т. И. 1966. Биохимия вирусов. М., «Медицина».
31. Шведчикова Н. Г., Тарасевич Л. М. 1966. В сб. «О природе вирусов». М., «Наука».
32. Шведчикова Н. Г., Тарасевич Л. М. 1968. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
33. Aizawa K., Iida S. 1963. J. Insect Pathol., **5**, 3, 344.
34. Allison A. C., Burke D. C. 1962. J. Gen. Microbiol., **27**, 181.
35. Aoki K., Chigasaki Y. 1921. Zentralbl. Bacteriol., **86**, 481.
36. Arnott H. J., Smith K. M. 1968. J. Ultrastruct. Res., **21**, 251.
37. Bailey L., Gibbs A. J., Woods R. D. 1968. J. Gen. Virol., **2**, 251.
38. Bellet A. J. D., Inman R. 1967. J. Molec. Biol., **25**, 425.
39. Benz G. 1967. Viertel. Naturforsch. Ges., Zürich, **112**, 1, 29.
40. Benz G., Wäger R. 1971. J. Invert. Pathol., **18**, 1, 70.
41. Bergoin M., Vago C. 1967. Arch. Ges. Virusforsch., **21**, 3—4, 469.
42. Bergoin M., Veyrunes J. C. 1970. Virology, **40**, 3, 760.
43. Bergold G. H. 1947. Zeitschr. Naturforsch., **3**, 3/4, 122.
44. Bergold G. H., Friedrich-Frekse H. 1947. Zeitschr. Naturforsch., **26**, 410.
45. Bergold G. H., Pister L. 1948. Zeitschr. Naturforsch., **36**, 406.
46. Bergold G. H., Wellington E. P. 1954. J. Bacteriol., **67**, 2, 210.
47. Bergold G. H. 1968. Handbuch Virusforsch., **40**, 60. Springer, Vienna.
48. Bolle I. 1898. Der Seidenraupen in Japan. Budapest.
49. Breindl V., Jirovec O. 1935. Vestn. Csl. Zool. Spol., **3**, 9.
50. Cornegie J. W., Beaudreau G. S. J. Virology, **4**, 3, 311.
51. Day M. F., Mercer E. H. 1964. Austral. J. Biol. Sci., **17**, 4, 892.
52. Donaghue T. P., Hayashi Y. 1972. Canad. J. Microbiol., **18**, 2, 207.
53. Egawa K., Summers M. D. 1972. J. Invert. Pathol., **19**, 395.
54. Engstrom A., Kilksom B. 1968. Exptl Cell Res., **53**, 305.
55. Esies Z. E., Faust R. M. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 2, 259.
56. Estes Z. E., Ignoffo C. M. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 2.
57. Estes Z. E., Faust R. M. 1966. J. Invert. Pathol., **8**, 115.
58. Eto M. 1955. Sci. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ., **15**, 345.
59. Faulkner P. 1962. Virology, **16**, 479.
60. Faust R. M., Estes Z. E. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 4, 521.
61. Faust R. M. 1966. J. Invert. Pathol., **8**, 2, 273.
62. Faust R. M., Adams J. R. 1966. J. Invert. Pathol., **8**, 526.
63. Glitz D. G., Hills G. J., Rivers C. F. 1968. J. Gen. Virol., **3**, 209.
64. Grazia A., Brachet J., Jeener R. 1945. Compt. Rend. Soc. Biol., **139**, 1, 51.
65. Harrap K. A., Longworth J. F., Tinsley T. W., Brown K. W. 1956. J. Invert. Pathol., **8**, 270.
66. Hayashi Y., Kawase S. 1964. Virology, **23**, 612.
67. Hayashi Y. 1968. J. Invert. Pathol., **12**, 3, 468.
68. Hayashi Y., Bird F. T. 1968. J. Invert. Pathol., **12**, 1, 140.
69. Hayashi Y. 1970. Canad. J. Microbiol., **16**, 11, 1101.
70. Hayashi Y., Cunningham J. C. 1971. J. Invert. Pathol., **17**, 3, 433.
71. Hayashi Y., Durzan D. J. 1971. J. Invert. Pathol., **18**, 121.
72. Hayashi Y., Krywienzyk Y. 1972. J. Invert. Pathol., **19**, 160.
73. Himeno M., Onodera K. 1969. J. Invert. Pathol., **13**, 87.
74. Johnson D. R., Young S. Y. 1972. J. Invert. Pathol., **19**, 2, 219.
75. Kalmakoff J., Lewandowski L. J., Black D. R. 1969. J. Virol., **4**, 851.
76. Kawase S., Hayashi Y. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 1, 19.
77. Kawase S. 1967. J. Invert. Pathol., **9**, 1, 136.
78. Kawase S. 1967. J. Invert. Pathol., **9**, 373.
79. Kawase S., Furusawa T. 1971. J. Invert. Pathol., **18**, 1, 33.
80. Kawase S. 1967. Microbiol. Control. of Insects Pests. Abstracts of Papers, USA — Japan Seminar, Fukuoka.
- 80a. Kelly D. C., Tinsley T. W. 1974. J. Invert. Pathol., **24**, 169.
81. Kislef N., Edelman M., Harpaz I. 1971. J. Invert. Pathol., **17**, 2, 199.
- 81a. Krell P., Lee P. E. 1974. Virology, **60**, 315.
82. Krieg A. 1956. Naturwissenschaften, **43**, 23, 537.
83. Krieg A., Langenbuch R. 1956. Z. Pflanzenkrankh., **63**, 95.
84. Krywienzyk J., Bergold G. H. 1961. J. Insect Pathol., **3**, 1, 15.
85. Krywienzyk J., Hayashi Y., Bird F. T. 1958. J. Invert. Pathol., **13**, 114.
86. Krywienzyk J., Hayashi Y. 1971. J. Invert. Pathol., **17**, 3, 321.
87. Kurstak E. 1970. Rev. Can. Biol., **29**, 2, 207.
88. Lee P. E., Furgala B. 1965. J. Insect Pathol., **7**, 4, 502.
89. Lewandowski L. J., Kalmakoff J., Tanada Y. 1969. J. Virol., **4**, 6, 857.
90. Longworth J. F., Harrap K. A. 1968. J. Invert. Pathol., **10**, 139.
91. Longworth J. F., Tinsley T. W., Barwise A. H., Walker I. O. 1968. J. Gen. Virol., **3**, 167.
92. Longworth J. F., Payne C. C., McLeod R. 1972. J. Gen. Virol., **18**, 2, 119.
93. Meynadier G., Vago C., Plantevin G., Aiger P. 1964. Rev. Zool. Agr. et Appl., **63**, 207.

94. Miura K., Fujii J., Sakai T., Fuke M., Kawase S. 1968. J. Virol., 2, 10, 12.
95. Morris O. N. 1962. J. Insect Pathol., 4, 446.
96. Morris O. N. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 2, 191.
97. Nishimura, Hosaka. 1969. Cit. Hayashi Y. a. Cunningham J. C. 1971.
98. Onodera K., Komano T., Himeno M., Sakai F. 1965. J. Mol. Biol., 13, 532.
99. Panebianco R. 1895. Boll. mens di Bachiculture, N 11, 145.
100. Plus N. 1968. Arch. Ges. Virusforsch., 25, 352.
101. Richards W. C., Hayashi Y. 1971. J. Inv. Pathol., 17, 42.
102. Schmidt G., Thannhauser S. J. 1945. J. Biol. Chem., 161, 1, 83.
103. Schvedchicova N. G., Tarasevich L. M. [Шведчикова Н. Г., Тарасевич Л. М.]. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 1, 25.
104. Scott H. A., Young S. Y., McMasters J. A. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 2, 177.
105. Shapiro M., Ignoffo C. M. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 154.
106. Smirnof W. A. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 2, 295.
107. Smith J. D., Wyatt G. R. 1951. Biochem. J., 49, 2, 44.
108. Summers M. D., Anderson D. L. 1972. Virology, 50, 2, 459.
109. Thomas R. S. 1961. Virology, 14, 2, 240.
110. Thomas R. S., Williams R. C. 1961. J. Biophys. Biochem. Cytol., 11, 15.
111. Truffant N., Berger G., Niveleau A., May P., Bergoin M., Vago C. 1967. Arch. Ges. Virusforsch., 21, 3—4, 469.
112. Van der Geest L. P. S., Craig R. 1967. J. Invert. Pathol., 9, 1, 43.
113. Van der Geest L. P. A. 1968. J. Invert. Pathol., 7, 15.
114. Vaughn J. K. 1965. J. Invert. Pathol., 7, 4, p. 524.
115. Watanabe H. 1967. J. Invert. Pathol., 9, 3, 425.
116. Wellington E. F. 1954. Biochem. J., 57, 2, 334.
117. Wyatt G. R. 1952. J. General Physiol., 36, 2, 201.
118. Xeros N. 1962. Biochim. et biophys. acta, 55, 176.
119. Yamafuji K. 1967. Insect Pathol. a. Microbiol. Control., p. 26, North-Holland Publish. Compt. Amsterdam.

Глава десятая

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИРУСОВ НАСЕКОМЫХ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ БОРЬБЕ С ВРЕДИТЕЛЯМИ СЕЛЬСКОГО И ЛЕСНОГО ХОЗЯЙСТВА

Начиная с 50-х годов нашего столетия энтомопатогенные вирусы активно привлекаются для биологической борьбы с вредными насекомыми. Оказалось, что быстрый и эффективный способ уничтожения вредителей с помощью ядохимикатов приводит к целому ряду нежелательных последствий. Ядохимикаты токсичны для человека, сельскохозяйственных, домашних и диких животных, полезных насекомых, так как накапливаются в почве и растениях. Ядохимикаты нарушают естественные биоценозы, уничтожают паразитов и хищников вредных насекомых. Насекомые адаптируются к ядохимикатам, и последние постепенно теряют свое действие [4, 7]. Всех этих недостатков лишены вирусы насекомых. Они безвредны для человека и животных, специфичны и не поражают паразитов и хищников вредных насекомых. Наконец, самым важным свойством вирусов, как агентов биологической борьбы, является их способность вызывать эпизоотии среди вредных насекомых, приводящих к снижению их численности. После окончания эпизоотии вирус остается естественным членом биоценоза, находясь в латентном или хроническом состоянии, и при стечении благоприятных условий в природе активизируется и снова приводит к эпизоотиям. Распространению вирусов в природе способствуют также всевозможные биотические и абиотические факторы (см. главу V).

Таким образом, развитие эпизоотий в популяции гусениц может быть или результатом заражения здоровых гусениц и быстрого распространения инфекции в популяции, достигшей большой плотности, или результатом активации латентной инфекции (см. главу VII).

Развитие эпизоотий в результате заражения насекомых доказано уже опытом применения вирусов против вредителей. При этом наблюдается совершенно очевидная прямая корреляция между дозой вируса и конечным результатом его действия. Однако всегда может оставаться сомнение, что действие вируса связано не с прямым заражением, а с активацией латентной инфекции.

Эти сомнения могут быть разрешены только в опытах, где гусеницы свободны от латентной инфекции. Линии гусениц, сво-

бодные от латентной инфекции, были получены с помощью селекции и (или) стерильных условий выращивания гусениц. В экспериментах с такими линиями можно было убедиться в прямом заражении насекомых. Так, Бэлч и Бэрд [49] в течение 20 лет работали с выведенной ими линией пилильщика, в которой никогда не возникали эпизоотии. Такая же линия гусениц *Galleria mellonella* была выращена Стейрсом [105] с помощью индивидуальной культуры гусениц в стерильных условиях отбора. Эта линия в течение 12 генераций не давала вспышек спонтанной эпизоотии. Линии тутового шелкопряда, свободные от вируса ядерного полиэдроза, были выращены Тарасевич [34], Ованесян [21], Алиевым [1]. В таких линиях гусеницы заболевали только при их заражении (но не спонтанно) и никакие стрессоры не могли вызвать вирусное заболевание у этих гусениц.

Эпизоотии насекомых, вызывающие смертность гусениц в популяциях вредных и полезных насекомых, были описаны многими исследователями [2, 6, 8, 22, 23, 27, 29, 32, 42, 50, 52, 56, 64, 86, 94, 106, 114].

Приведем здесь лишь несколько примеров.

В Северной Америке рыжий сосновый пилильщик (*Neodiprion sertifer*) беспрепятственно размножался, не имея естественных врагов в течение многих лет, но когда из Швеции в Канаду был завезен вирус, эпизоотии почти полностью уничтожили вредителя [53]. Орловская [25] изучала вирусные эпизоотии у кольчатого шелкопряда (*Malacosoma disstria*) и боярышницы (*Aporia crataegiae*) в Закарпатской и Черновицкой областях. Так, в 1954—1955 гг. она наблюдала максимальную численность боярышницы в Черновицкой области — 50 гнезд вредителя на одно плодородное дерево. В результате эпизоотии ядерного полиэдроза численность боярышницы резко упала, и в 1957 г. было зарегистрировано уже 2,6 гнезда на одно дерево.

В 1956 г. в Тырновском и Бургасском округах Болгарии наблюдалась массовая гибель непарного шелкопряда (*P. dispar*) от полиэдроза. 74,2% гусениц, собранных во время вспышки, содержали характерные для этого заболевания полиэдры [28]. Эпизоотии гранулеза у *Pyrus anastomosis* наблюдал Сидор [97] на Воеводине в Югославии при высокой плотности популяции и полной деформации плантаций *Poplar*.

В некоторых районах Грузинской ССР в 1966—1967 гг. Чхубианишвили [39] наблюдала массовое размножение зеленой дубовой листовертки (*Tortrix viridana*). На следующий год в очагах массового размножения вредителя возникла эпизоотия полиэдроза среди гусениц старших возрастов. При этом наблюдалась явная корреляция между размерами повреждений дубовых насаждений и смертностью вредителя. Так, гибель гусениц составляла 85,8% при поврежденности листьев, равной 80,5%, а

при гибели гусениц, равной 22,5%, повреждения листьев составляли 9,8%.

Этот же автор наблюдал эпизоотии у пяденицы-обдирало (*Erannia defoliaria*) и зимней пяденицы (*Operophtera brumata*) в Грузии в результате большой плотности гусениц, где смертность вредителя достигала 70—80% [40].

На северо-востоке США эпизоотии ядерного полиэдроза непарного шелкопряда (*P. dispar*) играют часто главную роль в контроле численности популяций насекомых [60, 61]. Эпизоотии гранулеза озимой совки (*Agrotis segetum*) на кукурузе наблюдались Дикасовой [11]. Смертность гусениц в августе составила 100%.

Гулий [9] выделяет три формы протекания эпизоотий в природных популяциях насекомых: острую, подострую и хроническую. Острое течение инфекции характерно для ядерных полиэдрозов кишечника, когда инкубационный период заболевания составляет 3—5 дней: заболевание быстро охватывает популяцию, приводя ее к гибели. К подострой форме относится течение заболеваний при полиэдрозах общего типа и гранулезах. При этом инкубационный период увеличивается в 2—3 раза, и гибель гусениц несколько растянута. Для некоторых насекомых характерно хроническое протекание инфекции с небольшим процентом гибели гусениц от вирусной инфекции.

Наблюдение естественных эпизоотий в популяциях вредных насекомых с очевидностью свидетельствует о возможности использования вирусов насекомых для создания искусственных эпизоотий и снижения численности вредных насекомых. Было предложено много видов вирусов насекомых для использования их в качестве агентов биологической борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства.

В табл. 21 приводится список вирусов насекомых, предложенных для биологической борьбы против вредителей и прошедших испытания в природных условиях.

Этот список не является исчерпывающим и, по-видимому, в действительности он может быть значительно полнее. Из представленного списка видно, что для биологической борьбы в настоящее время используются вирусы из рода *Baculovirus*, заключенные в полиэдры и гранулы, которые хорошо защищают вирионы от быстрой инактивации в природных условиях. Подавляющее большинство вирусов, предлагаемых для биологической борьбы, входит в естественный микробиоценоз, и только в небольшом числе случаев мы имеем дело с интродуцированными штаммами. Такими интродуцированными штаммами были вирусы ядерных полиэдрозов кишечника елового (*Duprion hercyniae*) и рыжего соснового (*Neodiprion sertifer*) пилильщиков, причиняющих огромный вред лесам Канады.

Вирусное заболевание елового пилильщика было случайно завезено в Канаду в 1937—1938 гг., и к 1940 г. популяция этих

Таблица 21

Вирусы насекомых, предложенные в качестве агентов биологической борьбы

Насекомое-мишень	Род патогена	Литературный источник
<i>Agrotis segetum</i> (озимая совка)	Гранулез	[11]
<i>Aporia crataegiae</i> (боярышница)	Ядерный полиэдроз	[26]
<i>Autographa californica</i> (люцерновая совка)	То же	[116]
<i>Barathra brassicae</i> (капустная совка)	»	[20]
<i>Carposapsa pomonella</i> (яблонная плодожорка)	»	[17]
<i>Choristoneura fumiferana</i> (еловая хвоевертка)	Ядерный полиэдроз, гранулез, смешанная инфекция	[103]
<i>Colias philodice eurytheme</i> (североамериканская желтушка)	Ядерный полиэдроз	[112]
<i>Dendrolimus sibiricus</i> (сибирский шелкопряд)	Гранулез	[18]
<i>Dendrolimus spectabilis</i> [(японский шелкопряд)	Цитоплазматический полиэдроз	[80]
<i>Eucosma griseana</i> (хвоевертка)	Гранулез	[86]
<i>Gilpinia hercynia</i> (еловый пилильщик)	Ядерный полиэдроз	[49]
<i>Hodena sordida</i> (серая зерновая совка)	Гранулез	[42]
<i>Harrisina brillians</i> (виноградная пестрянка)	»	[58]
<i>Heliothis virescens</i> (табачная совка)	Ядерный полиэдроз	[55, 85]
<i>Heliothis zea</i> (хлопковая совка)	То же	[46, 75, 85, 109]
<i>Hypanthia cunea</i> (американская белая бабочка)	»	[12, 33, 37, 48, 82, 91, 92, 107, 111]
<i>Hypopomeuta mallinellus</i> (яблонная моль)	»	[31]
<i>Kotochalia junodis</i> (мешочница)	»	[93]
<i>Lambdina fiscellaria</i> (восточная пяденица)	»	[59]
<i>Malacosoma disstria</i> (кольчатый шелкопряд)	Ядерный полиэдроз, дензонуклеоз	[12, 41, 104]
<i>Malacosoma fragile</i>	Ядерный полиэдроз	[57]
<i>Neodiprion pratti pratti</i>	То же	[87]
<i>Neodiprion sertifer</i> (рыжий сосновый пилильщик)	»	[2а, 10, 53, 62]
<i>Neodiprion swainei</i> (сосновый пилильщик)	»	[98]
<i>Orgyia pseudotsugata</i> (волнянка)	»	[89]
<i>Oryctes rhinoceros</i> (кокосовый жук)	Вирус без включений	[69]

Таблица 21 (окончание)

Насекомое-мишень	Род патогена	Литературный источник
<i>Pieris brassicae</i> (капустная белянка)	Гранулез	[15, 20, 54, 73, 100]
<i>Pieris rapae</i> (репная белянка)	»	[45, 79, 84, 100, 108, 118]
<i>Porthetria dispar</i> (непарный шелкопряд)	Ядерный полиэдроз	[22, 60, 95]
<i>Pseudaletia unipuncta</i> (луговая совка)	Ядерный полиэдроз, гранулез, смешанная инфекция	[110]
<i>Spodoptera litoralis</i> (подгрызающая совка)	Ядерный полиэдроз	[43]
<i>Thaumetopoea pityocampa</i> (сосновый походный шелкопряд)	Цитоплазматический полиэдроз	[68, 115]
<i>Trichoplusia ni</i> (капустная метелловидка)	Ядерный полиэдроз	[63, 73, 84, 96, 116]

насекомых была полностью уничтожена эпизоотиями полиэдроза от Квебека до Вермонта и Нью-Хемпшира [49, 70].

В 1949 г. в провинциях Онтарио и Квебек (Канада) для борьбы с сильными повреждениями сосновых плантаций рыжим сосновым пилильщиком (*Neodiprion sertifer*) был применен вирус ядерного полиэдроза, после чего численность вредителя была сведена к практически неопасному уровню [53].

В настоящее время оба интродуцированных вируса вошли в естественный микробиоценоз.

Для того чтобы предлагаемый вирус мог быть использован для биологической борьбы, он должен отвечать нескольким основным требованиям [70, 77, 83]: 1) оказывать патогенное действие на экономически важного вредителя и одновременно обладать минимальным действием на других насекомых, особенно полезных (пчелы, тутовый шелкопряд, паразиты и хищники вредных насекомых); 2) должен быть безопасен для человека, высших животных и растений; 3) не должен вызывать устойчивость к нему в популяции насекомых; 4) должен легко распространяться в популяции насекомых (см. главу VI) с тем, чтобы его повторные применения были минимальными; 5) применение предлагаемого вируса должно быть легким, т. е. должно производиться обычными методами и обычными аппаратами; 6) стоимость изготовления вируса не должна быть высокой и не должна превышать стоимости химических инсектицидов.

Всем этим требованиям, казалось бы, отвечают вирусы, однако последний критерий — стоимость является пока еще наиболее «узким местом» вирусных препаратов. Дело в том, что

вирусы в массовом количестве можно получать практически только на живых насекомых. Насекомые представляют собой очень дешевый объект и могут быть разведены в неограниченном количестве, однако они требуют питания, и в этом заключается наибольшая трудность. При разведении насекомых должна использоваться искусственная питательная среда, на которой они могли бы нормально расти и развиваться, и, кроме того, эта среда должна иметь небольшую стоимость. В то же время используемые для разведения насекомых искусственные среды обычно содержат дорогостоящие ингредиенты. Приведем для примера несколько рецептов искусственных сред для выращивания насекомых.

Искусственная среда (в г) для выращивания большой пчелиной моли (*Galleria mellonella*) [3]:

Пшеничная мука	— 110	Глицерин	— 110
Отруби	— 110	Кукурузная мука	— 220
Молочный порошок	— 110	Пчелиный воск	— 175
Мед	— 110	Сухие дрожжи	— 55

Искусственная среда (в г) для выращивания капустной совки — *Varathra brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) [88]:

Казеин	— 17	Зародыши пшеницы	— 15
Сахароза	— 15	Холестерол	— 0,7
Порошок капусты	— 7,5	Нипагин М	— 2,3
Смесь солей	— 5,2	Холин-хлорид	— 10
Порошок целлюлозы	— 3	Агар-агар	— 10
Сенной порошок	— 18	Дистиллированная вода	— 400 мл

Искусственная среда для выращивания цветочной мухи — *Hylemia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) [47]:

Сухое молоко	— 200 мл	Вода	— 1000 мл
Желатина	— 32 г	Ауреомицин	— 0,3 г
Сахар	— 60 г	Метилпарагидроксибензоат	— 1,25 г
Дрожжевой гидролизат	— 40 г	пара-Пропилдисульфид	— 0,2 мл
Зародыши пшеницы	— 40 г		

Для разведения насекомых предложено много различных искусственных сред [14, 30, 38, 44], но задача заключается в подборе наиболее простых и, следовательно, наиболее дешевых. В настоящее время этому первостепенному вопросу уделяется большое внимание, и, по-видимому, в недалеком будущем трудный вопрос экономически выгодного способа разведения насекомых будет удовлетворительно разрешен.

Было бы заманчиво думать, что массовое получение вируса возможно в культуре тканей насекомых. Однако в настоящее время процесс культивирования тканей насекомых еще очень

трудоемок и дорог. Культивирование тканей является пока удобным способом изучения репродукции вирусов и различных вопросов патологии вирусных инфекций насекомых. Впервые удачное культивирование вируса насекомого в тканях осуществил Трегер [113]. Кусочки тканей яичников тутового шелкопряда он инокулировал гемолимфой из больных гусениц этого насекомого. В ядрах клеток ткани наблюдалось образование типичных полиэдров, инфекционность клеток увеличивалась во много раз, и инфицированная ткань вызывала заражение здоровых культур. В опытах Трегера вирус прошел семь серийных пассажей. Большой вклад в культивирование тканей насекомых внес Грейс [65—67]. Этот автор установил три непрерывные линии клеточных культур насекомых: *Antheraea eucalypti*, *Aedes aegypti*, *Bombyx mori*.

Были установлены далее непрерывные клеточные линии *Heliothis zea* [72], *Malacosoma disstria* [102], *Drosophila melanogaster* [74]. Клеточные линии и среда Грейса широко используются в различных странах. Многие исследователи вносят в культивирование клеток насекомых многочисленные модификации, которые сводятся в основном к преодолению процесса меланизации гемолимфы (образования темноокрашенных токсичных хиноновых продуктов) и к облегчению использования эмбриональных тканей насекомых, которые имеют очень малые размеры. Часто исследователи пользуются не непрерывной клеточной линией, а первичными культурами тканей из яиц или семенников насекомых, которые можно поддерживать в течение нескольких пассажей [19, 74, 101]. Сводки по культивированию тканей насекомых можно найти в обзорах Грейса [67], Мартиньони [86], Джонса [78], Ваго [115], Вауна [117].

Таким образом, пока единственной возможностью накопить вирус для использования его в биологической борьбе остается заражение живых насекомых. Несмотря на то что наиболее чувствительными к вирусной инфекции являются гусеницы младших возрастов, для массового накопления вируса выгоднее заражать гусениц старших возрастов, с тем чтобы к моменту проявления инфекции вес тела гусениц был максимальным. Обычно в больных гусеницах накапливается 10—20% вирусных включений от веса тела гусениц. Для массового размножения вируса гусениц инфицируют через корм. Продолжительность инкубационного периода зависит от многих причин, однако наиболее важными являются вирулентность вируса, доза вируса, возраст гусениц.

Одним из способов повышения вирулентности штамма вируса может быть пассирование вируса через организм другого хозяина.

В процессе адаптации вируса ядерного полиэдроза ивовой волнянки (*Stilpnotia salicis*) к непарному шелкопряду (*Porthetria dispar*) Орловской [22] был получен штамм, который пре-

вышал вирулентность исходного штамма в 12 раз. У насекомых, которые выжили после инфицирования, более сильное снижение плодовитости наблюдалось при инфицировании экспериментальным штаммом, чем нативным. Обработка яйцекладок непарного шелкопряда в лесах экспериментальным и нативным штаммами показала большую вирулентность экспериментального штамма [24]. Более вирулентный штамм ядерного полиэдро-за боярышницы (*Arora graefiae*) был получен также пассированием его через гусениц *Galleria mellonella* [26].

Вирулентность штамма может быть повышена и последовательными пассажами через своего хозяина. Так, вирус дензону-клеоза большой вошинной моли (*Galleria mellonella*), хранившийся при комнатной температуре в течение 8 месяцев в трупах погибших гусениц, после шести последовательных пассажей увеличил свою вирулентность вдвое. В первом пассаже смертность гусениц составила 50%, в последнем, шестом, — 100%.

Инкубационный период заболевания в первом пассаже был равен 15 дням, в последующих — 5—10 дням, а в шестом — $\frac{2}{3}$ гусениц погибали в первые пять дней после инфицирования [40].

При больших дозах вируса влияние возраста гусениц мало сказывается на эффективности вируса — обычно процент гибели гусениц бывает высоким и одинаковым. Влияние возраста гусениц хорошо заметно при более низких дозах вируса. Для иллюстрации этого положения приведем данные из опытов с американской белой бабочкой (*Hyrphantria cunea*) [111] (табл. 22).

Таблица 22

Зависимость гибели гусениц H. cunea от возраста и дозы вируса

Год испытания	Число обработанных гнезд вредителя	Возраст гусениц	Доза полиэдров/мл	Погибших гусениц, %
1967	7	IV—V	5×10^9	100
	6	IV—V	5×10^9	99,7
1967	3	II—III	56×10^9	99,7
	17	II—III	5×10^9	99—100
	10	IV—V	5×10^9	93,4
	10	IV—V	23×10^9	96
1968	10	IV—V	4×10^9	97,4
	10	III—IV	5×10^9	98,2
	10	III—IV	5×10^8	94,8
	1 га	II	5×10^7	87
1969	190	III—IV	1×10^7	67
	343	V	5×10^7	53,7
	82	VI—VII	5×10^7	17,8

В вирусологии вирулентность вируса характеризуется LD_{50} — 50%-ной летальной дозой. Чем меньше LD_{50} вируса, тем он более вирулентен. LD_{50} определяется с помощью инъекции серийных разведений вирусного материала подопытным животным и последующей статистической обработкой материала различными способами, которые хорошо описаны во всех практических руководствах по вирусологии [5, 43].

В случае вирусов насекомых для характеристики вирулентности вируса удобнее пользоваться не LD_{50} , а LC_{50} и LT_{50} — 50%-ной летальной концентрацией и 50%-ным временем до гибели гусениц.

Учитывая небольшие размеры насекомых, массовое разведение их, цели, для которых они предназначены, вполне приемлема характеристика 50%-ной летальной концентрации вируса. Определение LC_{50} позволяет вводить вирус гусеницам с помощью группового скормливания. Кроме того, LT_{50} — среднее время до гибели гусениц от момента их инфицирования — является дополнительной характеристикой вирулентности вируса.

Если вирусологи, изучающие вирусы человека и животных, имеют дело с вирусным материалом, содержащим вирионы, невидимые в световом микроскопе, то вирусологи насекомых, работающие в области применения вирусов в целях биологической борьбы, имеют дело с вирусными включениями — полиэдрами и гранулами. Полиэдры благодаря своим крупным размерам (1—15 мк) доступны для подсчета в световом микроскопе, поэтому в вирусологии насекомых принято выражать титр заключенных вирусов (*Baculovirus*) в количестве полиэдров на единицу объема или веса. Мы совершенно согласны с Канин-хем [59], что в случае полиэдров и гранул, предназначенных для испытания в поле, мы всегда имеем дело с генетически гетерогенным материалом как вирусных включений, так и гусениц, поэтому вполне достаточно характеризовать эти вирусы LC_{50} .

Для титрования полиэдров многие исследователи применяют подсчет их количества в камере Горяева, предназначенной для подсчета элементов крови.

Из-за невозможности применять иммерсионную систему в камере Горяева в подсчет не попадают мелкие полиэдры и результаты получаются заниженными в 100 раз, как было показано нами. Обычно мы всегда для подсчета полиэдров пользуемся микроскопическим методом Брида, предназначенным для подсчета бактерий с иммерсионной системой микроскопа. Зарубежные исследователи также пользуются бактериальными счетчиками в этих целях. В табл. 23 приводим сравнительные данные количественного определения полиэдров и гранул различными методами.

Для титрования гранул подсчет в камере Горяева полностью исключается, а подсчет с помощью иммерсионной системы светового микроскопа или фазовых контрастов чреват большими

Таблица 23

Сравнительные результаты определения полиэдров *Parthetria dispar* в камере Горяева и по Бриду

Навеска сырых полиэдров, мг	Число полиэдров в навеске		Число полиэдров в 1 мг		Вес одного полиэдра, мг	
	в камере Горяева	по Бриду	в камере Горяева	по Бриду	в камере Горяева	по Бриду
50,7	$2,0 \times 10^7$	$1,8 \times 10^9$	4×10^5	$3,5 \times 10^7$	25×10^{-7}	21×10^{-9}
54,8	$1,8 \times 10^7$	$1,6 \times 10^9$	$3,4 \times 10^5$	3×10^7	29×10^{-7}	28×10^{-9}
52,7	$1,9 \times 10^7$	$1,7 \times 10^8$	$3,7 \times 10^5$	$3,2 \times 10^7$	27×10^{-7}	24×10^{-9}

ошибками из-за малых размеров гранул (300—500 нм), так как примеси различных структурных элементов клетки могут ошибочно быть приняты за гранулы. Наиболее точный подсчет гранул может быть произведен в электронном микроскопе.

Часто бывает необходимо сравнить вирулентность или количественный выход полиэдров и гранул из определенной навески гусениц или целой гусеницы. В этом случае необходимо пользоваться эквивалентным способом титрования включений. Мы предложили принципиально новый метод титрования полиэдров и гранул по инфекционной нуклеиновой кислоте [35].

Известно, что за инфекционные свойства полиэдров и гранул ответственна нуклеиновая кислота — дезоксирибонуклеиновая (ДНК) или рибонуклеиновая (РНК), заключенная в вирусных частицах, входящих в состав телец-включений. Предлагаемый принципиально новый способ титрования вирусных телец-включений путем определения содержания в них инфекционной нуклеиновой кислоты в пересчете на сухое вещество позволяет эквивалентно титровать любые вирусные включения насекомых с известным содержанием в них инфекционной ДНК или РНК. Преимущество титрования вирусных телец-включений по нуклеиновой кислоте заключается в том, что титруется непосредственно инфекционное начало вирионов, заключенных в полиэдрах или гранулах.

Способ титрования по нуклеиновой кислоте сводится к взятию определенной навески сырых полиэдров или гранул и пересчету ее на содержание нуклеиновой кислоты. Путем изменения навески можно уравнивать количество инфекционной нуклеиновой кислоты полиэдров и гранул.

Количество инфекционной ДНК (РНК) в сырой навеске полиэдров или гранул, взятой для инфицирования насекомых, в пересчете на вес сухого вещества определяется по формуле

$$\frac{abc}{K} = \text{ДНК(РНК) мг,}$$

где a — сырая навеска полиэдров (гранул), взятая для инфицирования; b — вес сухих полиэдров (гранул), %; c — содержание ДНК (РНК) в полиэдрах (гранулах), % от веса сухого вещества; K — постоянная величина, равная 10 000.

Вес сухих полиэдров (гранул) определяется после лиофильной сушки данного образца или высушивания в эксикаторе над пятиокисью фосфора до постоянного веса.

Процентное содержание ДНК (РНК) в тельцах-включениях определяется на основе литературных источников или общепринятыми специфическими реакциями Дише в модификации Бартонна на ДНК и реакцией Биала по Мейбаум на РНК. Этим способом можно определять 50%-ную смертельную дозу гибели гусениц (LD_{50}), делая серийные разведения исходной навески с известным содержанием нуклеиновой кислоты и выражая LD_{50} в количестве ДНК (РНК) на одну особь или на 1 г живого веса.

Этот способ титрования испытывали при инфицировании гусениц американской белой бабочки (*Huphantria cunea*) в Молдавской ССР (Новые Анены) полиэдрами, гранулами и их смесью. Количество полиэдров, гранул и их смеси выравнивали по содержанию ДНК в пересчете на вес сухого вещества. Доза ДНК в расчете на одну гусеницу II возраста составила 0,06γ. В пересчете на 1 г живого веса гусениц эта доза равна 8γ ДНК, так как средний вес гусениц II возраста — 7 мг. При такой дозе полиэдров, гранул и их смеси гибель гусениц составляла 94—100%.

Для инфицирования гусениц в полевых условиях пользуются суспензиями вирусных включений в воде с добавлением небольшого процента веществ, способствующих прилипанию и эмульгированию вирусных включений. Показано, что дусты являются менее эффективным средством обработки насаждений. Оборудование для обработок применяется обычное — от ранцевых и тракторных опрыскиваний до авиаобработок вертолетом и самолетом. Естественно, что чем тоньше распыл вируса, тем меньше норма его расхода при обработке. Обычно для обработок полевых угодий или лесных насаждений используют суспензии вирусных включений, содержащие 10^6 — 10^9 включений в 1 мл жидкости, однако количество суспензии, используемое на единицу обрабатываемой площади, часто значительно варьирует. Это может объясняться вирулентностью вируса, возрастом гусениц, климатическими условиями, разными методами определения титров включений, степенью совершенства оборудования и другими причинами.

В табл. 24 приведем в качестве примера некоторые данные, показывающие количество вирусных включений, используемых разными авторами при обработке против различных вредителей.

Сравнительно недавно были сделаны попытки применить вирусы без включений в целях биологической борьбы. Так, вирус жука *Oryctes rhinoceros*, причиняющий вред кокосовым планта-

Таблица 24

Дозы и эффективность применения вирусов против вредных насекомых

Насекомое-мишень	Род патогена	Применяемая доза	Смертность гусениц, %	Литературный источник
<i>Aporia crataegiae</i>	Ядерные полиэдры	$3 \times 10^4 - 3 \times 10^6$ пол/мл	49—100	[26]
<i>Colias philodice euritheme</i>	То же	5×10^6 пол/акр 23 л/акр	100	[112]
<i>Dendrolimus sibiricus</i>	Гранулы	$10^8 - 10^9$ г/мл	100	[18]
<i>Dendrolimus spectabilis</i>	Цитоплазматические полиэдры	$10^9 - 10^{12}$ пол/га	—	[81]
<i>Heliothis zea</i>	Ядерные полиэдры	100×10^6 пол/мл/гус 200×10^6 пол/г $10 - 18 \times 10^{11}$ пол/акр	73 55,5 Прибавка урожая на 14%/акр	[409] [75] [46]
<i>Hyphantria cunea</i>	То же	60 гус. экв/акр $2 \times 10^9 - 3,2 \times 10^6$ $10^6 - 10^7$ пол/мл	48—79 60—100 85	[85] [91] [37]
<i>Iponomeuta malinellus</i> , <i>I. padellus</i>	»	$5 - 15 \times 10^6$ пол/мл	100	[31]
<i>Kotochalia junodis</i>	»	$5 \times 10^5 - 5 \times 10^6$ пол/мл	88	[93]
<i>Lambdina fiscellaria</i>	»	10^6 пол/мл 30 гал/акр	Высокая степень смертности	[59]
<i>Malocosoma neustria</i>	»	10^7 пол/мл	70—98	[16]
<i>Malocosoma distria</i>	»	$5 \times 10^6 - 10^7$ пол/мл	14—92	[104]
<i>Mamestra brassicae</i>	»	$2,8 - 6,2 \times 10^9 - 4 \times 10^{10}$ пол/акр	70—100	[45]
<i>Neodiprion sertifer</i>	»	10^6 пол/мл, 83 л/23 га $6 - 9 \times 10^9$ пол/га	94	[53] [13]
<i>Neodiprion swaini</i>	»	2×10^6 пол/мл 0,5—4 гал/акр	100	[98]
<i>Orgia pseudotsugata</i>	»	$1,2 - 12 \times 10^6 - 10^7$ пол/мл	90—98	[89]
<i>Pieris rapae</i>	»	10^6 пол/мл	94	[62]
<i>Pieris brassicae</i>	Гранулы	$10 - 20 \times 10^6$ г/мл	70—80	[15]
<i>Porthetria dispar</i>	Ядерные полиэдры	$2,7 \times 10^8$ пол/мл 4 гал/акр	Снижение численности яиц вредителей в 50 раз	[95]

Примечание: 1 акр = 0,44 га; 1 галлон = 4,5 л.

циям на о-вах Самоа, в 1970 г. был интродуцирован на о. Уэльс. Заболевание приобрело эпизоотический характер.

Попытка применить радужный вирус *Chilo* против хлопкового долгоносика (*Anthonomus grandis*) была сделана Мак Лауфлин и др. [85], которые смешивали вирус со стимулирующей приманкой для долгоносика. Вирус сохранялся в приманке 1—6 дней.

В программе интегрированной борьбы с вредными насекомыми большое значение приобретает использование вирусных патогенов вместе с низкими дозами химических инсектицидов. Последние служат стрессорами и увеличивают чувствительность насекомых к инфекции. Работы в этом аспекте можно найти в обзоре Бенца [51]. Канадские исследователи [90] провели широкие испытания действия вирусов ядерного полиэдроа еловой хвоевертки (*Choristoneura fumiferana*) и вируса оспы (*Choristoneura biennis*) в смеси с низкими дозами фенитротина на участках белой сосны (*Picea glauca*). Наиболее высокий эффект снижения численности популяции вредителя был получен при обработке плантаций сосны вирусом ядерного полиэдроа в смеси с инсектицидом. Выход бабочек был наименьшим при обработке смесью вирусов с инсектицидом (16,3—30,7%) и наибольшим при обработке одним инсектицидом (71,6%). Вирус оспы в смеси с инсектицидом изменял соотношение самок и самцов, как 1 : 2 против обычного 1 : 1.

Вирус-инсектицидные комбинации давали наименьшую жизнеспособность яиц и наименьшее потомство вредителей.

Вирусные включения погибших от вирусной инфекции гусениц должны быть изолированы из гусениц, очищены и идентифицированы. Чем быстрее погибшие гусеницы будут подвергнуты очистке, тем меньше сопутствующей микрофлоры будет присутствовать в осадке вирусных включений. Изоляция и концентрация вирусных включений производится с помощью гомогенизации погибших гусениц, фильтрования через плотный, марлевый или капроновый фильтр и последующей концентрации фильтрата центрифугированием с переменным низко- и высокочастотным осаждением включений. При этом осадок включений будет очищен от грубых тканевых примесей. Далее следуют различные более совершенные методы очистки, как сахарозный градиент, ацетоново-лактозный метод, очистка полиэтиленгликолем, обработка ферментами.

Идентификация полиэдров в большинстве случаев проводится с помощью морфологической оценки в световом микроскопе, однако в настоящее время такая оценка недостаточна. Необходимы серологические, электронно-микроскопические, биохимические и физико-химические характеристики для идентификации вида вирусных включений. В первую очередь серологическая и электронно-микроскопическая идентификации необходимы для гранул при гранулезе насекомых.

Выход («урожай») вирусных включений на единицу живого веса гусениц или на одну гусеницу может быть легко высчитан любым из методов определения титра вирусных включений, описанных выше.

После того как вирусные включения получены и идентифицированы, они должны пройти тщательную проверку на безопасность для человека, домашних животных, рыб, полезных насекомых. Такая проверка необходима, несмотря на то что более чем за 10 лет использования вирусов для биологической борьбы с вредными насекомыми не было зарегистрировано ни одного случая токсического действия вирусного препарата. Однако поскольку вирус представляет собой инфекционный агент, мы не можем быть гарантированы, например, от его мутации.

К 1965 г. насчитывалось уже 2200 позвоночных животных, которым вводились вирусы насекомых, и ни в одном случае не было зарегистрировано летального исхода. Отрицательные данные в случае проверки вирусов на токсичность имеют первостепенное значение. Безвредность различных видов вирусов полиэдрозов и гранулезов была показана экспериментально на человеке, кроликах, морских свинках, белых мышах, цыплятах, куриных эмбрионах, лягушках [70, 76].

Безопасность препарата должна быть тщательно установлена в опытах со всевозможными видами инъекции вируса грызунам. Необходимо проверить: его действие на кожу и дыхательные пути, оральную токсичность препарата, присутствие вируса в фецес и тканях, аллергические реакции, карциногенное действие, размножение в тканевых культурах млекопитающих [70].

Так, например, Игноффо и Хеймпел [76] производили ингаляцию мышей и морских свинок в течение 2—6 час. дустом, содержащим $1,13 \times 10^9$ полиэдров на 1 мг дуста (100 мг на свинку и 500 мг на мышь). Из 42 опытных свинок только одна погибла от пневмонии. Из 20 мышей ни одна не погибла. В течение последующих двух месяцев наблюдения все животные чувствовали себя нормально.

Ставились опыты на аллергенность вирусного препарата с помощью подкожных инъекций вируса морским свинкам ($3,5 \times 10^8$ полиэдров на одну свинку). Наблюдения велись 61—85 дней. Обработанные свинки нормально прибавляли в весе и не имели никаких патологических отклонений. Шести свинкам производились внутрибрюшинные инъекции (3 мг на одно животное) вирусного белка и вирионов. В течение 92 дней не наблюдалось гибели и патологических изменений, наблюдался нормальный вес и температура животных. Интрацеребральные, интравенозные инъекции и скормливание через рот также не давали смертных случаев, и в течение двухмесячного наблюдения все животные оставались здоровыми.

Хеймпел и Бухнен [71] проводили опыты по определению токсичности вируса ядерного полиэдроза *Heliothes zea* на волонтерах. Десять мужчин и женщин получили препарат живого вируса в виде сухого порошка в желатиновых капсулах (6 мг на одну капсулу). Каждый миллиграмм содержал $1,94 \times 10^8$ полиэдров. Максимальное бактериальное загрязнение достигало 7500 бактерий в 1 мг. Из них 750 были споровыми, но *B. coli* не было обнаружено. За 5 дней каждый человек получил 5,82 биллиона полиэдров или 582 биллиона вирусных частиц. Шесть человек (контроль) получили столько же полиэдрического белка без вирусных частиц. Количество вируса, полученное каждым волонтером, было достаточным, чтобы вызвать гибель *H. zea* на 0,01 акра хлопка или гусениц, находящихся на 5000 капустных кочанов (1/4 акра). Перед опытом, через 10 и 30 дней всем волонтерам был сделан полный медицинский анализ, который не показал каких-либо существенных изменений в опытной группе.

По данным Смирнова и Маклеода [99], после скормливания белым мышам полиэдров в концентрации $120—150 \times 10^6$ в 1 мл в фецес не было обнаружено полиэдров, а центрифугат фецес при 4000 об/мин не вызывал заболевания у соответствующих насекомых-хозяев этих вирусов. Исследовалось действие вирусов полиэдроза и гранулеза американской белой бабочки на морских свинок и полезных насекомых — тутового шелкопряда и пчел [36]. Вирусы не были инфекционными для всех испытанных животных и не активировали собственную латентную инфекцию у пчел и тутового шелкопряда, хотя она была в значительной степени выражена у этих насекомых. Наблюдения за насекомыми велись в течение месяца с момента заражения, а за морскими свинками — в течение двух месяцев. Важно, чтобы безопасность вируса была установлена как можно раньше. Не говоря уже о безопасности людей, участвующих в изготовлении и применении вирусного препарата, уменьшаются потери времени и материальных затрат. После установления безопасности вирусного препарата последний может быть допущен для широких испытаний.

Эффективность препарата определяется процентом смертности гусениц на опытных делянках по отношению к контрольным, степенью выживаемости насекомых, по количеству отложенных яиц, приростом урожая на обработанных делянках по сравнению с контрольными. В методических указаниях по испытанию биопрепаратов¹ предлагается пользоваться формулой Аббота для определения процента смертности гусениц, находящихся в гнездах:

$$\text{Процент смертности} = \left[\frac{\text{Процент мертвых особей в опыте} - \text{Процент мертвых особей в контроле}}{100 - \text{процент мертвых особей в контроле}} \right] \times 100.$$

¹ «Методические указания по испытанию биопрепаратов для защиты растений от вредителей, болезней и сорняков». М., «Колос», 1973.

Можно пользоваться также характеристикой «техническая эффективность», где предусматривается учет живых гусениц после обработки препаратом

$$\text{Техническая эффективность} = \left[1 - \frac{\text{Число живых особей на обработанных делянках}}{\text{Число живых особей на контрольных делянках}} \right] \times 100.$$

Для свободно мигрирующих насекомых эффективность препарата может быть оценена по следующей формуле:

$$\text{Процент отмирания} = 100 \times \left[1 - \frac{\text{Число живых особей в опыте после обработки} \times \text{Число живых особей в контроле до обработки}}{\text{Число живых особей в опыте до обработки} \times \text{Число живых особей в контроле после обработки}} \right]$$

Средняя эффективная доза препарата находится в результате статистического анализа полученного материала [5].

Известно, что в естественных популяциях насекомых результат вирусной обработки не ограничивается одной стадией развития, а имеет последствие в последующих стадиях и даже генерациях. Поэтому следует признать правильной оценку по выживаемости насекомых в разных стадиях развития. Так, например, Кояма и Катагири [81] при оценке эффективности вирусного препарата против соснового шелкопряда (*Dendrolimus spectabilis*) выделяют три периода для оценки степени выживаемости, так как гусеницы *D. spectabilis* зимуют в лесной подстилке: 1) период перед зимовкой, 2) во время зимовки, 3) после зимовки. Степень выживаемости эти авторы определяют средним числом яиц, отложенных одной самкой в следующем поколении.

Имеет большой смысл также оценка эффективности действия препарата по прибавке урожая на обработанных делянках.

Характеристика вирусного препарата не будет полной без данных о его устойчивости к окружающим условиям, о спектре поражаемых хозяев, о совместимости с другими сельскохозяйственными мероприятиями, о возможности развития устойчивости у насекомых к данному препарату, о продолжительности инкубационного периода болезни насекомых и др. Полная характеристика вирусного препарата невозможна без тщательных исследований, на которые обычно требуется 7—10 лет.

В настоящее время в США промышленностью выпускается 11 вирусных препаратов. В табл. 25 приводим их список.

В Советском Союзе предложено несколько вирусных препаратов для использования их в целях биологической борьбы с вредными насекомыми. По-видимому, в течение ближайших лет они займут свое место в арсенале биологических средств защиты растений от вредителей и будут способствовать не только

Таблица 25

Препараты вирусов насекомых, выпускаемые различными фирмами США [77]

Насекомое-мишень	Препарат	Фирма
Complex Bollworm—budworm	Biotrol VHZ, Viron/H tm	Nutrilite Products Inc. Intern. Minerals a. Chemical Corp., Chem. Division
Complex Sawfly	Virex Polyviroicide	Hayes—Sammons Indiana Farm Bureau Co.—Op. Assoc
Armyworms	Prodenia virus	Intern. Minnerals a. Chemical Corp., Chem. Division
	Biotrol VPO	Nutrilite Products, Inc.
Fall-beet army-worm complex	Spodoptera virus	»
	Biotrol VSE	»
Cabbage looper	Trichoplusia virus	Biological Control Supplies.
	Trichoplusia virus	Intern. Minnerals a. Chemical Corp., Chem. Division.
	Biotrol VTN	Nutrilite Products, Inc.

повышению урожая, но и оздоровлению воздушной среды от загрязнений ядохимикатами. Препараты ВИРИН-ЭНШ — для борьбы с непарным шелкопрядом и ВИРИН-ЭКС — для борьбы с капустной совкой проходят в настоящее время государственные испытания [27а].

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев А. Г. 1969. Вестник с. х., № 7, 14.
2. Бурдаева Т. С. 1971. XIII Междунар. энтомол. конгресс. Резюме докл. М.
- 2а. Бурдаева Т. С. 1973. Обоснование применения полиэдренного вируса против рыжего соснового пилильщика в лесомелиоративных насаждениях Юго-Востока. Автореф. канд. дисс. М.
3. Вейзер Я. 1972. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. Пер. с чешск. М., «Колос».
4. Викторов А. Г. 1956. Зоол. журн., 25, 10.
5. Винклер Д. 1970. В сб. «Практическая вирусология». Пер. с нем. под ред. В. Н. Сюрица. М., «Колос».
6. Воронцов А. И., Каюкина З. З. 1961. Труды Хоперск. гос. заповедника, вып. 4, 93.
7. Гиляров М. С. 1961. Журн. общей биол., 23, 5.
8. Гороховников А. В., Орловская Е. В., Фодор Ш. 1968. Материалы совещ. по микробиол. борьбе с вредит. сельск. и лесного хозяйства, вып. 1, 78.
9. Гулий В. В. 1971. Изв. Сиб. отд. АН СССР, № 5, 72.
10. Гулий В. В., Жимерикин В. Н. 1971. Лесоведение, № 3, 22.

11. Дикасова Е. Т. 1964. В сб. «Исследования по биологическому методу борьбы с вредителями сельского и лесного хоз-ва». Новосибирск.
12. Дикусар М. К. 1970. В сб. «Биологически активные вещества микроорганизмов». Кишинев, «Карта Молдавеныске».
13. Жимерикин В. Н., Воробьева Н. Н. 1971. В сб. «Защита леса от вредных насекомых и болезней», 1, 46.
14. Жужигов Д. П. 1969. Успехи совр. биол., 67, 2, 294.
15. Заринь И. А. 1968. XIII Междунар. энтомот. конгресс. Резюме докл. М.
16. Заринь И. А. 1971. Биологическая защита плодовых и овощных культур. Кишинев.
17. Лескова А. Я. 1965. Защита растений от вредителей и болезней, № 5, 47.
18. Лукьянчиков В. П. 1962. Защита растений от вредителей и болезней, № 2, 24.
19. Милосердова В. Д. 1969. Микробиол. журн., № 5, 544.
20. Нурлыбаева Р. 1971. В сб. «Научно-техническая информация по сельскому хозяйству», № 8. Алма-Ата.
21. Ованесян Т. Т. 1965. Вестник с. х. науки, № 4, 51.
22. Орловская Е. В. 1961. Бюлл. ВИЗР, № 324, 54.
23. Орловская Е. В. 1962. Вопросы экологии, 8, 87.
24. Орловская Е. В. 1963. В сб. «Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми». М., Изд-во АН СССР.
25. Орловская Е. В. 1963. Вопросы лесозащиты, 1, 121.
26. Орловская Е. В. 1971. В сб. «Защита леса от вредных насекомых и болезней». М.
27. Орловская Е. В. 1970. Вирусы насекомых и их применение в защите леса. Изд-во МСХ СССР.
- 27а. Орловская Е. В. 1974. В сб. «Биологические средства защиты растений». М., «Колос».
28. Панайотов П., Зашев Б., Керемдичев М., Цанков Г., Григорова Р. 1958. Изв. на ин-та за гората, кн. III, стр. 417, София.
29. Поспелов В. П. 1933. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. М., Сельхозгиз.
30. Северина Н. И. 1972. Бюлл. Сиб. научно-иссл. ин-та химизации сельского хоз-ва, вып. 5, 36.
31. Симонова Э. Ж. 1968. В сб. «Биол. метод борьбы с вредителями растений». Рига, «Зинатне».
32. Сиротина М. И. 1959. Труды УИЗР, 8, 224.
33. Тарасевич Л. М., Лоншакова Е. В., Дуло В. Ю. 1968. Материалы научн. совещ. по тутоводству и защите шелкопряда и шелкопряда от болезней и вредителей. Тбилиси.
34. Тарасевич Л. М. 1953. Микробиология, 22, 3, 311.
35. Тарасевич Л. М. 1971. Микробиол. пром-сть, № 11, 36.
36. Тарасевич Л. М., Рындовская Ю. Л., Бескина С. Р., Минкевич Н. И. 1973. Докл. ВАСХНИЛ, № 8, 37.
37. Тарасевич Л. М., Дуло В. Ю. 1970. Карантинные объекты СССР и меры борьбы с ними. М., «Колос».
38. Хлистовский Е. Д. 1968. Полусинтетические питательные среды и приемы выкармливания на них гусениц совок (Lep., Noct.). Автореф. канд. дисс. Ташкент.
39. Чхубианишвили Ц. А. 1968. Труды Ин-та защиты растений ГрузССР, 15, 417.
40. Чхубианишвили Ц. А. 1970. Труды Ин-та защиты растений ГрузССР, 22, 119.
41. Чхубианишвили Ц. А. 1971. Защита леса от вредных насекомых и болезней, 1, 180. М.
42. Шехурина Т. А. 1974. Сб. «Биол. средства защиты растений». М., «Колос».
43. Шубладзе А. К., Гайдамович С. Я. 1954. Практическая вирусология. М., «Медицина».
44. Эдельман Н. М. 1961. Успехи совр. биол., 51, 2, 204.
45. Akutsu K. 1968. Proc. Joint US-Jap. Seminar Microbiol. Contr. Insect Pests, 1967.
46. Allen G. E., Gregory B. C., Pate T. L. 1967. J. Invert. Pathol., 9, 40.
47. Allen W. R., Askew W. L. 1970. Canad. Entomol., 102, 112, 1554.
48. Ariga C. 1966. Сельское хоз-во и садовод., 41, 1, 13. Пер. с японск.
49. Balch R. E., Bird F. T. 1944. Sci. Agric., 25, 65.
50. Benz G. 1962. Agronomski glasnik (Zagreb), 566.
51. Benz G. 1971. Microbiol. Contr. insects and mites. H. D. Burgess a. N. W. Hussey eds. Acad. Press., N. Y.
52. Bird F. T. 1948. Canad. Dept. Agr. Bi-monthly Progr. Rept., 4, 2, 1.
53. Bird F. T. 1953. Canad. Entomol., 85, 437.
54. Billiotti E. P., Grison P., Martouret D. 1956. Entomophaga, 1, 35.
55. Chapman A. J., Martin D. F. 1965. J. Invert. Pathol., 7, 227.
56. Clark E. C. 1958. Ecology, 36, 373.
57. Clark E. C., Thompson C. G. 1954. J. Econ. Entomol., 47, 268.
58. Clausen C. P. 1961. Hilgardia, 31, 613.
59. Cunningham J. C. 1970. Proc. IV Intern. Coll. Insect Pathol. Coll. Park, Md., USA.
60. Doane C. C. 1967. J. Invert. Pathol., 9, 3, 376.
61. Doane C. C. 1968. Insect Pathol. a. Microbiol. Contr., 1967. Amsterdam.
62. Franz J. M. 1961. Ann. Rev. Entomol., 6, 183.
63. Getzin L. W. 1962. J. Econ. Entomol., 55, 442.
64. Glaser R. W. 1915. J. Agric. Res., 4, 101.
65. Grace T. D. C. 1962. Nature (Ld), 195, 4843, 788.
66. Grace T. D. C. 1966. Nature (Ld), 211, 366.
67. Grace T. D. C. 1967. Nature (Ld), 216, 613.
68. Grison P. 1960. Zeitschr. für angewand. Entom., 47, 1, 24.
69. Hammes Cl. 1971. C. R. Acad. Sci., D 273, 12, 1048.
70. Heimpel A. M. 1968. Proc. Joint US-Jap. Seminar Microbiol. Contr. Insect Pests., 1967.
71. Heimpel A. M., Buchanan L. K. 1967. J. Invert. Pathol., 9, 1, 55.
72. Hink W. F., Ignoffo C. M. 1970. Exptl Cell. Res., 60, 307.
73. Hofmaster R. N., Ditman L. P. 1961. J. Econ. Entomol., 54, 921.
74. Horikawa M., Fox A. S. 1964. Science, 145, 1437.
75. Ignoffo C. M. 1965. J. Invert. Pathol., 7, 315.
76. Ignoffo C. M., Heimpel A. M. 1965. J. Invert. Pathol., 7, 329.
77. Ignoffo C. M. 1968. Current Topics in Microbiol. a. Immunol., 42. Berlin.— N. Y.
78. Jones B. M. 1962. Biol. Rev., 37, 512.
79. Kelsey J. M. 1958. New Zealand J. Agric. Res., 1, 778.
80. Koyama R. 1961. J. Jap. Forest Soc., 43, 91.
81. Koyama R., Katagiri K. 1968. Proc. Joint USA—Jap. Seminar Microbiol. Contr. Insect. Pests, 1967.
82. Krieg A., Schmidt L. 1962. Nachrichten Deutsch. Pflanzenschutz., 14, 177.
83. MacBain Cameron J. W. 1968. Insect Pathol. a. Microbiol. Contr., 1967. Amsterdam.
84. Mac Even F. L., Hervey G. E. R. 1959. J. Insect Pathol., 1, 86.
85. Mac Laughlin R. E., Andrews G., Bell M. R. 1971. J. Invert. Pathol., 18, 2, 304.
86. Martignoni M. E., Auer C. 1957. Mitt. Schweiz. Anstalt forstl. Versuchswesen, 33, 73.
87. McIntyre A. B., Dutky S. R. 1961. J. Econ. Entomol., 54, 4, 809.
88. Maleki-Milani H. 1971. Ann. Soc. Ent. Fr. (N. S.), 7, 1, 39.
89. Morris O. N. 1963. J. Insect Pathol., 5, 4, 401.
90. Morris O. N., Armstrong J. A., Hildebrand M. J. 1972. Information Report CC-X-37. Ottawa.
91. Ohta Y., Doi K., Morii K., Imai T. 1966. Proc. Sericult Exptl Stat. at Ebine.
92. Oliver A. D. 1964. J. Econ. Entomol., 57, 314.
93. Ossowski L. L. J. 1957. Ann. Apl. Biol., 45, 81.

94. Paillot M. 1924. Compt. Rend. Acad. Sci., **179**, 229. Paris.
95. Rollinson W. D., Lewis F. B., Waters W. E. 1965. J. Invert. Pathol., **7**, 4, 515.
96. Semel M. 1961. J. Econ. Entomol., **54**, 698.
97. Sidor C. 1968. Zbornik za prirod. nouke, **34**, 105.
98. Smirnof W. A. 1962. Coll. Int. Pathol. Insects. Paris.
99. Smirnof W. A., MacLeod C. F. 1964. J. Insect Pathol., **6**, 537.
100. Smith K. M. 1967. Insect Virology, Acad. Press. N. Y.—Ld.
101. Sohi S. S. 1968. Canad. J. Zool., **46**, 11.
102. Sohi S. S. 1971. Canad. Entomol., **49**, 10, 1355.
103. Stairs G. R., Bird F. T. 1962. Canad. Entomol., **94**, 9, 966.
104. Stairs G. R. 1964. Canad. Entomol., **96**, 1017.
105. Stairs G. R. 1965. Canad. Entomol., **97**, 1059.
106. Steinhaus E. A. 1945. J. Econ. Entomol., **38**, 591.
107. Szirmai J. 1957. Acta Microbiol. Acad. Sci. Hungar., **4**, 1, 31.
108. Tanada Y. 1956. J. Econ. Entomol., **49**, 320.
109. Tanada Y., Reiner C. E. 1962. J. Insect Pathol., v. 4, p. 139.
110. Tanada Y. 1968. Proc. Joint US—Jap. Seminar Microbiol. Contr. Insect Pests, 1967.
111. Tarasevitch L. M., Dulo V. U., Lonschakova E. W., Kirillova G. N. [Тарасевич Л. М., Дуло В. Ю., Лоншакова Е. В., Кириллова Г. Н.]. 1970. Intern. Congress of Plant Protection. Paris.
112. Thompson C. C., Steinhaus E. A. 1950. Hilgardia, **19**, 411.
113. Trager W. 1935. J. Exptl Med., **8**, 501.
114. Vago C. 1964. Rev. Pathol. Veg. et Ent., **B**, 43, 101.
115. Vago C., Maury R. 1959. Rev. Forestiere Franc., **5**, 353.
116. Vail P. V., Whitaker T., Tobu H., Kishaba A. N. 1971. J. Econ. Entomol., **64**, 5, 1132.
117. Vaughn J. 1968. Current Topics Microbiol. a. Immunol., **42**. Berlin — N. Y.
118. Wilson F. 1960. Austral. J. Agric. Res., **2**, 485.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Глава первая.	
Место вирусов насекомых в единой классификации вирусов	5
Краткая характеристика различных групп вирусов насекомых	8
Трудности классификации вирусов насекомых	19
Литература	24
Глава вторая	
Симптомы и патогенез вирусных инфекций насекомых	26
Симптомы и патогенез ядерных полиэдрозов и гранулезов насекомых (Baculovirus)	26
Патогенез ядерных полиэдрозов кишечника	33
Изменения, происходящие в гемолимфе насекомых при полиэдрозах и гранулезах	38
Влияние вирусной инфекции на развитие насекомых	40
Изучение обмена нуклеиновых кислот у насекомых, пораженных ядерным полиэдрозом	40
Биохимия нуклеиновых кислот гусениц, пораженных ядерным полиэдрозом	45
Симптомы и поражения, вызванные вирусами цитоплазматического полиэдроза (Reovirus)	46
Патологические изменения в гусеницах, пораженных вирусами оспы насекомых (Entomopoxvirus)	47
Патологические изменения в гусеницах, пораженных радужными вирусами (Iridovirus)	50
Патологические изменения при других вирусных инфекциях насекомых	53
Литература	56
Глава третья	
Структура и морфогенез вирусов насекомых	59
Структура и морфогенез Baculovirus, вызывающих полиэдрозы и гранулезы насекомых	59
Морфогенез Baculovirus	68
Структура и морфогенез вируса оспы насекомых (Entomopoxvirus)	74
Структура и морфогенез радужных вирусов (Iridovirus)	78
Структура и морфогенез вирусов, вызывающих цитоплазматические полиэдрозы (Reovirus)	81

Структура вирусов острого паралича и мешотчатого расплода пчел (Enterovirus)	83
Литература	85
<i>Глава четвертая</i>	
<i>Специфичность вирусов насекомых</i>	88
Специфичность вирусов гранулезов и полиэдрозов	89
Специфичность вирусов цитоплазматического полиэдроза	96
Специфичность радужных вирусов	98
Специфичность других вирусов	100
Литература	101
<i>Глава пятая</i>	
<i>Факторы, влияющие на вирусную инфекцию насекомых</i>	103
Влияние факторов внешней среды на вирусную инфекцию насекомых	103
Влияние факторов внешней среды на вирусные включения насекомых	112
Влияние ультрафиолетового и других видов излучения на вирулентность полиэдров и гранул	114
Литература	117
<i>Глава шестая</i>	
<i>Пути передачи вирусных инфекций насекомых</i>	119
Горизонтальная передача вирусных инфекций	120
Трансовариальная передача вируса (вертикальный путь распространения инфекции)	121
Литература	126
<i>Глава седьмая</i>	
<i>Латентные вирусные инфекции насекомых</i>	128
Литература	134
<i>Глава восьмая</i>	
<i>Смешанные вирусные инфекции насекомых</i>	136
Взаимоотношения специфических вирусов насекомого-хозяина	139
Взаимоотношения специфических и чужеродных вирусов	142
Литература	145
<i>Глава девятая</i>	
<i>Биохимический состав и свойства вирусных включений насекомых и вирионов</i>	147
Свойства нуклеиновых кислот включений и вирионов	148
Свойства РНК вирусов насекомых, содержащих РНК-вирионы	155
Нуклеиновые кислоты инфицированных насекомых	158
Белки вирусов и вирусных включений насекомых	162
Протеиновый и аминокислотный обмен при вирусных инфекциях насекомых	171
Литература	174
<i>Глава десятая</i>	
<i>Использование вирусов насекомых в биологической борьбе с вредителями сельского и лесного хозяйства</i>	177
Литература	193